МАТЕРИАЛЫ КОНГРЕССА

VII МОСКОВСКИЙ МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС

«БИОТЕХНОЛОГИЯ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ»

Россия, Москва, Новый Арбат, 36/9 (Здание Правительства Москвы)

При поддержке
Департамента науки,
промышленной политики
и предпринимательства
города Москвы

SUPPORT:
Department of science,
industrial policy and
entrepreneurship of Moscow

19 - 22 марта

2013

March, 19 - 22

BiO ТЕХНОЛОГИИ

СПОНСОР КОНКУРСА МОЛОДЫХ УЧЕНЫХ:

ОАО «ИНСТИТУТ БИОТЕХНОЛОГИЙ
ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ»

Russia, Moscow, Novy Arbat, 36/9 (the House of Moscow Government)

VII MOSCOW INTERNATIONAL CONGRESS

"BIOTECHNOLOGY: STATE OF THE ART AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT"

CONGRESS PROCEEDINGS

УДК 663.1+579+577.1
ББК 28.072
Б63

VII МОСКОВСКИЙ МЕЖДУНАРОДНЫЙ КОНГРЕСС «БИОТЕХНОЛОГИЯ: СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ» 19-22 МАРТА 2013 г.

материалы VII Московского Международного Конгресса «Биотехнология: Состояние И Перспективы Развития» 19-22 Марта 2013 г.
М.: ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева,
2013 – 560 с.

ISBN 5-7237-0372-2

УДК 663.1+579+577.1
ББК 28.072

ISBN 5-7237-0372-2

Настоящие материалы конгресса созданы в ООО «Экспоконсалтинг» на основании информации, предоставленной организаторами, экспонентами и рекламодателями выставки и конгресса.
Заказчик: **© 2013 ЗАО «Экспо-биохим-технологии»**
Материалы тезисов публикуются в авторской версии. Организаторы не несут ответственности за неточности и упущения в названиях и адресах, представленных в данном сборнике.

VII MOSCOW INTERNATIONAL CONGRESS "BIOTECHNOLOGY: STATE OF THE ART AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT"

Proceedings of the VII Moscow International Congress "Biotechnology: State of the Art and Prospects of Development" (March 19-22, 2013, Moscow, Russia),
Moscow: JSC "Expo-biochem-technologies", D.I. Mendeleyev University of Chemistry and Technology of Russia,
2013 – 560 p.

ISBN 5-7237-0372-2

This Congress proceedings is issued by Expoconsulting, LTD by order of organizers of exhibition and congress on the basis of information given by exhibitors and advertisers.
The customer: **© 2013 JSC «Expo-biochem-technologies»**

The abstracts materials are published in author's version. The Organizers do not bear responsibility for any errors or omissions regarding the names and addresses of the congress participants, presented in the collection.

ОРГАНИЗАТОРЫ КОНГРЕССА И ВЫСТАВКИ:
THE ORGANIZERS OF THE CONGRESS ARE:

Министерство образования и науки Российской Федерации
Министерство промышленности и торговли Российской Федерации
Российская академия наук
Российская академия медицинских наук
Российская академия сельскохозяйственных наук
Российский фонд фундаментальных исследований
Российский союз химиков
ЗАО «Экспо-биохим-технологии»

Ministry of Education and Science of the Russian Federation
Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation
Russian Academy of Sciences
Russian Academy of Medical Sciences
Russian Academy of Agricultural Sciences
Russian Fund of Fundamental Researches
Russian Union of Chemists
JSC Expo-Biochim-Technologies

ОРГАНИЗАЦИИ, СОДЕЙСТВУЮЩИЕ ПОДГОТОВКЕ КОНГРЕССА:
SUPPORTERS:

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева
Всероссийский институт лекарственных растений (ВИЛАР)
Институт биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН
ГУ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН
Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова (химический и биологический факультеты)
ФГБОУ ВПО МГУПП
Московский институт тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова
(МИТХТ им. М.В. Ломоносова)
ГУ НИИ питания РАМН
РОАО «Росагробиопром»
Технологическая платформа «Медицина будущего»

D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia
Biomedical Technologies Center
M.M. Shemyakin and Yu.M. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
GE Scientific and Research Institute of Biomedical Chemistry named after
V.N. Orehovicha of the Russian Academy of Medical Sciences
National Research Center “Kurchatov Institute”
N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences
The Departments of Chemistry and Biology of Lomonosov Moscow State University
Moscow State University of Fine Chemical Technologies named after M.V. Lomonosov
Moscow State University of Food Production
Research Institute of Nutrition of the Russian Academy of Medical Sciences
ROAO “Rosagrobioprom”
Technology platform “The Future of Medicine”

Российская Академия Наук

От имени Президиума Российской академии наук, сердечно приветствую участников, организаторов и гостей VII Московского международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» и XI Международной специализированной выставки «Мир биотехнологии-2013».

XXI век по праву считается временем наук о жизни, когда биотехнология начинает играть все возрастающую роль в защите окружающей среды, создании новых материалов, повышении продуктивности сельского хозяйства, улучшении качества жизни в целом. Мир стремительно идет к новому экономическому укладу, основанному на использовании возобновляемого сырья, к построению биоэкономики.

Традиционно международные конгрессы и специализированные выставки по биотехнологической тематике вызывают широкий международный резонанс в научно-техническом сообществе, способствуют консолидации деятельности отечественных биотехнологов и укрепляют их связи с исследователями других стран.

Надеюсь, что при проведении конгресса будут созданы условия для установления научных контактов и творческого взаимодействия между российскими и Зарубежными учеными, научными организациями и специалистами по проблемам развития биотехнологий, разработке научных и правовых систем биобезопасности. Обсуждение актуальных проблем проведения фундаментальных исследований в этой области, несомненно, привлечет внимание не только российской, но и мировой научной общественности.

В работе конгресса принимают активное участие коллективы академических институтов, многих высших учебных Заведений. В рамках конгресса традиционно проводится конкурс молодых ученых, в котором примут участие молодые ученые их институтов РАН, аспиранты и студенты многих вузов России. Этот факт свидетельствует о высоком уровне подготовки кадров для биотехнологии, их высоком профессионализме.

Желаю всем участникам Конгресса и выставки успешной и плодотворной работы, больших творческих удач.

Президент
Российской академии наук
Академик
Ю. С. Осипов

Российская Академия Наук

On behalf of the Presidium of the Russian Academy of Sciences, welcome the participants, organizers and guests of the VII Moscow International Congress «Biotechnology: state of the art and prospects of development» and XI International Specialized Exhibition «Biotech World 2013».

XXI century is considered to be the time of the life sciences, where biotechnology is beginning to play an increasingly important role in protecting the environment, creating new materials, increasing agricultural productivity, improving the quality of life. The world is rapidly going to the new economic order based on the use of renewable raw materials, to the construction of the bioeconomy

Traditionally, international congresses and specialized exhibitions in the field of biotechnology with widespread international attention in the scientific and technical community, making consolidation of the domestic biotechnology and increase their contacts with researchers in other countries.

I hope that during the Congress will be all the conditions for the establishment of scientific communication and creative interaction between Russian and foreign scientists, scientific organizations and experts on the development of biotechnology, the development of scientific and legal systems of biosafety. Discussion of actual problems of basic research in this area will undoubtedly attract the attention not only of Russian, but also the world's scientific community.

The congress attended by collectives of academic institutions, many universities. Within the framework of the Congress is traditionally contest for young scientists, which will bring together young scientists of RAS institutes and students of many universities of Russia. This fact indicates a high level of training for biotechnology, their professionalism.

I wish all the participants of the Congress and the exhibition successful and productive work, great creative achievements.

President of the
Russian Academy of Sciences
Academician
Yu. S. Osipov

Участникам, организаторам и гостям VII Московского международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» и XI Международной специализированной Выставки «Мир биотехнологии – 2013»

От имени Правительства Москвы приветствую участников, организаторов и гостей VII Московского международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» и XI Международной специализированной выставки «Мир биотехнологии – 2013».

За годы своего существования конгресс и выставка обрели традиции, стали важными ожидаемыми событиями в научной и деловой жизни Москвы и России в целом, авторитетной площадкой для предметного и содержательного диалога органов власти, экспертного и бизнес-сообществ по актуальным вопросам развития отечественной и мировой биотехнологии.

Биотехнология является сегодня одним из важнейших приоритетов государственной политики на всех уровнях, это ключевой элемент в развитии столицы как крупнейшего в стране центра науки и технологии.

Убежден, что конгресс и выставка пройдут в конструктивном, творческом ключе, а их рекомендации найдут применение на практике и будут содействовать воплощению в жизнь новых востребованных планов и инициатив.

Желаю успешной, результативной работы и всего самого доброго.

Заместитель Мэра Москвы в Правительстве Москвы по вопросам экономической политики
А. В. Шаронов

To participants, organizers and guests of VII Moscow International Congress «Biotechnology: states of the art and prospects of development» and XI International Specialized Exhibition «Biotech World – 2013»

On behalf of the Government of Moscow I'm greeting the participants, organizers and guests of the VII Moscow International Congress "Biotechnology: state of the art and prospects of development" and XI International Specialized Exhibition "Biotech World – 2013."

Over the years, Congress and Exhibition acquired traditions, they become important events in the expected scientific and business life of Moscow and Russia, authoritative platform for meaningful and substantive dialogue of authorities, experts and the business community on current issues in the development of national and international biotechnology.

Biotechnology is now one of the top priorities of the state policy at all levels, is a key element in the development of the capital as the country's largest center for science and technology.

I am sure that Congress and Exhibition will be held in a constructive and creative ways, and their recommendations will be used in practice and will help realization of new plans and initiatives.

I wish you a successful, productive work and all the best.

With kind regards,
Deputy Mayor for Economic Policy
Sharonov A. V.

СОСТАВ ОРГАНИЗАЦИОННОГО КОМИТЕТА

Быков Валерий Алексеевич	**академик РАМН и РАСХН, член Президиума РАМН, директор Всероссийского института лекарственных растений, *председатель Организационного комитета***
Арчаков Александр Иванович	академик РАМН, вице-президент РАМН, директор Института биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича РАМН, ***сопредседатель Оргкомитета***
Петров Рэм Викторович	академик Российской академии наук, академик РАМН и РАСХН, советник Российской академии наук, ***председатель Программного комитета***
Алешников Владимир Евгеньевич	генеральный директор ЗАО «Экспо-биохим-технологии», ***ответственный секретарь Оргкомитета***
Егоров Алексей Михайлович	академик РАМН, зав. лабораторией инженерной энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
Иванов Вадим Тихонович	академик РАН, член Президиума РАН, директор Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН
Иванов Виктор Петрович	Президент Российского союза химиков
Калинин Юрий Тихонович	Президент Ассоциации предприятий медицинской промышленности, представитель АФК «Система»
Кирпичников Михаил Петрович	академик РАН, декан биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова, член Президиума РАН
Ковальчук Михаил Валентинович	член-корр. РАН, директор Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
Комиссаров Алексей Геннадиевич	к.э.н., Руководитель Департамента науки, промышленной политики и предпринимательства города Москвы
Крюков Сергей Вениаминович	д.т.н., председатель Совета Директоров РОАО «Росагробиопром»

Лисицын Андрей Борисович	академик РАСХН, вице-президент РАСХН, директор ГНУ ВНИИМП им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии
Нарайкин Олег Степанович	член-корр. РАН, зам. директора Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
Огородова Людмила Михайловна	член-корр. РАМН, депутат Государственной Думы РФ, председатель ТП «Медицина будущего»
Салихов Сергей Владимирович	Директор Департамента развития приоритетных направлений науки и технологий Минобрнауки России
Скрябин Константин Георгиевич	академик РАН и РАСХН, директор Центра «Биоинженерия» РАН
Тихонович Игорь Анатольевич	академик РАСХН, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии, г. Санкт-Петербург
Тутельян Виктор Александрович	академик РАМН, главный ученый секретарь РАМН, директор ГУ НИИ питания РАМН
Хаитов Рахим Мусаевич	академик РАН и РАМН, директор ГНЦ РФ «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства РФ
Харченко Петр Николаевич	академик РАСХН, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии
Цыб Сергей Анатольевич	к.э.н., директор Департамента химико-технологического комплекса и биоинженерных технологий Минпромторга РФ
Чехонин Владимир Павлович	академик РАМН, руководитель Отдела и зав. кафедрой медицинских нанобиотехнологий Российского государственного медицинского университета им. Н.И. Пирогова, руководитель Отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии Государственного научного центра социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского

ORGANIZING COMMITTEE 2013

Valery A. Bykov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the Biomedical Technologies Center, **Chairman of the Organizing Committee**
Alexander I. Archakov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of the Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS, Vice-president of the RAMS, **Co-Chairman of the Organizing Committee**
Rem V. Petrov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Adviser of the Russian Academy of Sciences, **Chairman of the Programme Committee**
Vladimir E. Aleshnikov	General Director of JSC "Expo-biochem-technologies", **Executive Secretary of the Organizing Committee**
Vladimir P. Chekhonin	Academician of the of the Russian Academy of Medical Sciences (RAMS), N.I. Pirogov State Medical University
Aleksei M. Egorov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State University
Vadim T. Ivanov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the RAS
Victor P. Ivanov	President of Russian Union Chemists
Yuriy T. Kalinin	PhD, Professor, President of the Association of the medical industry companies, the representative of the Sistema JSFC
Mikhail V. Kovalchuk	Corresponding Member Academy of Sciences, Director of the National Research Center "Kurchatov Institute"
Mikhail P. Kirpichnikov	Academician of the Russian Academy of Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State Univerity, a Member of the Russian Academy of Sciences Presidium

Sergey V. Krukov	PhD, Professor, The Chairman of the Committee of Directors ROAO "Rosagrobioprom"
Alexey G. Komissarov	PhD, Head of Department of Science, Industry and Entrepreneurship, Moscow City Government
Rakhim M. Khaitov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of Institute of Immunology of Health Care Ministry of the Russian Federation
Petr N. Kharchenko	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology RAAS
Andrey B. Lisitsyn	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Vice-President of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the Gorbatov's All-Russian Meat Research Institute of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Oleg S. Naraykin	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director of the National Research Center «Kurchatov Institute»
Ludmila M. Ogorodova	Corresponding Member of the Russian Academy of Medical Sciences, Deputy of the Duma RF, Chairman of Platform "Medical of the Future"
Sergey V. Salikhov	Director of the Department of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation
Konstantin G. Skryabin	Academician of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of Center "Bioengineering" of the Russian Academy of Sciences
Igor A. Tikhonovich	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Agricultural Microbiology of the Russian Academy of Agricultural Sciences, St.Petersburg
Sergey A. Tsyb	PhD, Director of Chemical Processing Complex and Bioengineering Technologies of Ministry of Industry and Trade of the Russia Federation
Victor A. Tutelyan	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of the Research Institute of Nutrition of the Academy of Medical Sciences Presidium

СОСТАВ ПРОГРАММНОГО КОМИТЕТА КОНГРЕССА

Петров Рэм Викторович	академик Российской академии наук, академик РАМН и РАСХН, советник Российской академии наук, ***председатель Программного комитета***
Быков Валерий Алексеевич	академик РАМН и РАСХН, директор Института ВИЛАР, ***председатель Организационного комитета***
Арчаков Александр Иванович	академик РАМН, вице-президент РАМН, директор Института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, ***сопредседатель Оргкомитета***
Алешников Владимир Евгеньевич	генеральный директор ЗАО «Экспо-биохим-технологии», ***ответственный секретарь Оргкомитета***
Береговых Валерий Васильевич	член-корр. РАМН, заведующий кафедрой организации производства и реализации лекарственных средств Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова
Варфоломеев Сергей Дмитриевич	член-корр. РАН, директор Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
Власов Валентин Викторович	академик РАН, директор Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, г. Новосибирск
Голиков Александр Григорьевич	профессор, Исполнительный директор Черноморской биотехнологической ассоциации
Глазко Валерий Иванович	профессор, академик РАСХН (иностранный член), Российский государственный аграрный университет - МСХА им. К.А. Тимирязева
Градова Нина Борисовна	профессор, д.б.н., кафедра биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева
Дыгай Александр Михайлович	академик РАМН, директор Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, г. Томск
Егоров Алексей Михайлович	академик РАМН, профессор, заведующий лабораторией инженерной энзимологии химического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
Жариков Геннадий Алексеевич	профессор, ФГУН «Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства Российской Федерации

Завриев Сергей Кириакович	член-корр. РАСХН, зав. отделом Института биоорганической химии им. академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН
Кирпичников Михаил Петрович	академик РАН, декан биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова
Ковальчук Михаил Валентинович	член-корр. РАН, директор Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»
Колесников Владимир Александрович	профессор, ректор РХТУ имени Д.И. Менделеева
Колчанов Николай Александрович	академик РАН, директор Института цитологии и генетики СО РАН, г. Новосибирск
Комиссаров Алексей Геннадиевич	к.э.н., Руководитель Департамента науки, промышленной политики и предпринимательства г. Москвы
Красильников ИгорьВикторович	д.б.н., профессор
Крылова Ольга	старший Директор по научным исследованиям компании Pfizer
Крюков Сергей Вениаминович	д.т.н., председатель Совета Директоров РОАО «Росагробиопром»
Лисицын Андрей Борисович	академик РАСХН, вице-президент РАСХН, директор ГНУ ВНИИМП им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии
Мартынов Александр Игоревич	к. м. н., Первый заместитель директора ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства
Меньшутина Наталия Васильевна	профессор, директор Российско-Швейцарского учебно-научного центра трансфера фармацевтических биотехнологий, РХТУ имени Д.И. Менделеева
Мирошников Анатолий Иванович	академик РАН, зам. директора Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, Председатель научного Совета Пущинского научного центра РАН
Наркевич Игорь Анатольевич	профессор, ректор Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии, г. Санкт-Петербург
Нарайкин Олег Степанович	член-корр. РАН, зам. директора по направлению НБИКС-технологии Национального исследовательского центра «Курчатовский институт»

Нетесов Сергей Викторович	член-корр. РАН, проректор по научной работе Новосибирского Государственного Университета, г. Новосибирск
Николаев Евгений Николаевич	д.ф.-м.н., профессор, заведующий лабораторией масс-спектрометрии биомакромолекул Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН
Овчинникова Татьяна Владимировна	профессор кафедры биотехнологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, руководитель Научно-образовательного центра Института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, *сопредседатель конкурса молодых ученых*
Огородова Людмила Михайловна	член-корр. РАМН, депутат Государственной Думы РФ, заместитель председателя ГД по науке и наукоемким технологиям, председатель ТП «Медицина будущего»,
Панфилов Виктор Иванович	профессор, проректор РХТУ имени Д.И. Менделеева
Петров Владимир Иванович	академик РАМН, ректор Волгоградского государственного медицинского университета
Поляков Виктор Антонович	академик РАСХН, директор ГНУ ВНИИПБТ Россельхозакадемии
Попов Владимир Олегович	член-корр. РАН, директор Института биохимии им. А.Н.Баха РАН, координатор технологической платформы «Биоиндустрия и Биоресурсы – БиоТех2030»
Поройков Владимир Васильевич	профессор, заведующий отделом биоинформатики, заведующий лабораторией структурно-функционального конструирования лекарств, Институт биомедицинскокй химии им.В.Н. Ореховича РАМН
Савашинский Сергей Иванович	директор по внешним связям компании «Мерк Шарп и Доум Идеа»
Салихов Сергей Владимирович	директор Департамента развития приоритетных направлений науки и технологий Минобрнауки России
Северин Евгений Сергеевич	член-корр. РАН, генеральный директор ВНЦ молекулярной диагностики и лечения
Седельникова Галина Васильевна	профессор, заместитель директора Центрального научно-исследовательского геологоразведочного института цветных и благородных металлов

Середенин Сергей Борисович	академик РАН и РАМН, директор ФГБУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» РАМН
Систер Владимир Григорьевич	член-корр. РАН, заведующий кафедрой «Экология городского хозяйства»
Скрябин Константин Георгиевич	академик РАН и РАСХН, директор Центра «Биоинженерия» РАН
Сокольская Татьяна Александровна	д.фарм.н., профессор, Первый зам директора ГНУ ВИЛАР Россельхозакадемии
Титов Евгений Иванович	академик РАСХН, директор Института прикладной биотехнологии
Тихонович Игорь Анатольевич	академик РАСХН, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии, г. Санкт-Петербург
Тутельян Виктор Александрович	академик РАМН, главный ученый секретарь РАМН, директор ГУ НИИ питания РАМН
Усанов Сергей Александрович	член-корр. НАН Беларуси, член Президиума НАН Беларуси, директор Института биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь
Хаитов Рахим Мусаевич	академик РАН и РАМН, директор ГНЦ РФ «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства РФ
Харитонов Владимир Дмитриевич	академик РАСХН, директор ГНУ ВНИИ молочной промышленности Россельхозакадемии
Харченко Петр Николаевич	член-корр. РАСХН, директор Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной биотехнологии Россельхозакадемии
Фролкова Алла Константиновна	профессор, ректор МИТХТ им. М.В.Ломоносова
Чехонин Владимир Павлович	академик РАМН, руководитель Отдела и зав. кафедрой медицинских нанобиотехнологий Российского государственного медицинского университета им. Н.И. Пирогова, руководитель Отдела фундаментальной и прикладной нейробиологии Государственного научного центра социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского
Цыб Сергей Анатольевич	к.э.н., директор Департамента химико-технологического комплекса и биоинженерных технологий Минпромторга РФ

Цыганов Дмитрий Игоревич	д.т.н., профессор, начальник Отдела по инновациям и интеллектуальной собственности РАН
Чоманов Урузбек Чоманович	академик НАН Республики Казахстан, зам. директора НПЦ перерабатывающей и пищевой промышленности при Министерстве сельского хозяйства РК, гл.ученый секретарь НАН республики Казахстан
Швец Виталий Иванович	академик РАМН, зав.кафедрой биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ им. М.В.Ломоносова, *председатель конкурса молодых ученых*
Шевелуха Виктор Степанович	академик РАСХН, профессор Российского государственного аграрного университета - МСХА им. К.А.Тимирязева
Шестибратов Константин Александрович	к.б.н., Руководитель группы лесной биотехнологии Филиала ИБХ, г. Пущино
Ширяева Ирина Андреевна	начальник Управления экологической политики Департамента природопользования и охраны окружающей среды города Москвы
Шоба Сергей Алексеевич	член-корр. РАН, декан факультета почвоведения, МГУ имени М.В. Ломоносова
Юдин Борис Григорьевич	член-корр. РАН, руководитель проекта ЮНЕСКО «Биоэтический форум»
Яруллин Рафинат Саматович	Генеральный директор ОАО «Татнефтехиминвест-Холдинг», Республика Татарстан
Яненко Александр Степанович	д.б.н., профессор, зам. директора ФГУП ГНЦ ГосНИИгенетика
Silke Schumacher	директор по международным связям Европейской лаборатории молекулярной биологии (EMBL, Germany)

PROGRAMME COMMITTEE 2013

Rem V. Petrov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Adviser of the Russian Academy of Sciences, **Chairman of the Programme Committee**
Valery A. Bykov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the Biomedical Technologies Center, **Chairman of the Organizing Committee**
Alexander I. Archakov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of the Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS, Vice-president of the RAMS, Co-Chairman of the Organizing Committee
Vladimir E. Aleshnikov	General Director of JSC «Expo-biochem-technologies», **Executive Secretary of the Organizing Committee**
Valeriy V. Beregovyh	Corresponding Member of the Russian Academy of Medical Sciences, Professor, the Head of Department of Managements Science for Medicine Manufacture and Pharmaceutical Supply System, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University
Vladimir P. Chekhonin	Academician of the of the Russian Academy of Medical Sciences (RAMS), N.I. Pirogov State Medical University
Uruzbek Ch.Chomanov	Academician of the NAN, Kazakhstan
Alexander M. Dygai	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of the Institute of Pharmacology of the Siberian RAMS, Tomsk
Aleksei M. Egorov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State University
Alla K. Frolkova	PhD, Professor, Rector of M.V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology
Valeriy I. Glazko	PhD, Professor, Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences Russian State (foreign member), Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev
Alexander G. Golikov	PhD, Professor, Executive Director of the Black Sea Biotechnology Association
Nina B. Gradova	PhD, Professor, D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia

Rafinat S. Jarullin	General Director of "Tatneftekhiminvest – Holding", Tatarstan
Mikhail P. Kirpichnikov	Academician of the Russian Academy of Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State University
Mikhail V. Kovalchuk	Corresponding member Academy of Sciences, Director of the National Research Center "Kurchatov Institute"
Vladimir A. Kolesnikov	PhD, Professor, Rector of D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia
Alexey G. Komissarov	PhD, Head of Department of Science, Industry and Entrepreneurship, Moscow City Government
Igor V. Krasilnikov	PhD, Professor
Rakhim M. Khaitov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of Institute of Immunology of Health Care Ministry of the Russian Federation
Vladimir D. Kharitonov	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Milk Industry of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Petr N. Kharchenko	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Nikolay A. Kolchanov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the Institute of Cytology and Genetics of the RAS Siberian Branch, Novosibirsk
Sergey V. Krukov	PhD, Professor, The Chairman of the Committee of Directors ROAO "Rosagrobioprom"
Olga Krylova	PhD, Senior Director Strategic Research Partnerships, Corporation Pfizer
Andrey B. Lisitsyn	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Vice-President of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the Gorbatov's All-Russian Meat Research Institute of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Alexander I. Martynov	PhD (Medicine), The First Deputy Director of Institute of Immunology of Health Care Ministry of the Russian Federation

Natalia V. Menshutina	PhD, Professor, Dean of the Faculty of Information Technology and Management, Director of the Russian-Swiss Science and Education Center shuttle pharmaceutical and biotechnology, Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia
Anatoly I. Miroshnikov	Academician of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director of M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
Igor A. Narkevich	PhD, Professor, rector of the St.-Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy
Sergey V. Netesov	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, pro-rector of the Novosibirsk State University
Evgeny N. Nikolaev	PhD, Professor, N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics of the RAS
Ludmila M. Ogorodova	Corresponding Member of the Russian Academy of Medical Sciences, Deputy of the Duma RF, Chairman of Platform "Medical of the Future"
Tatiana V. Ovchinnikova	PhD, Professor, Head of the Research and Training Center, M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, *Co*-Chairman of the Contest of Young Scientists
Viktor I. Panfilov	PhD, Professor, Pro-rector of D.I. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia
Vladimir I. Petrov	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Rector of the State Medical University of Volgograd
Vuctor A. Polaykov	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the Institute of Food Biotechnology RAAS
Vladimir O. Popov	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of A.N. Bach Institute of Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, Chairman of the Platform "BioTech 2030"
Vladimir V. Poroikov	PhD, Professor, GE Scientific and Research Institute of Biomedical Chemistry of the RAMS
Sergey I. Savashinskiy	Director of External Relations Company Merck Sharp and Doum INK
Silke Schumacher	Dr, Director International Relations, EMBL (European Molecular Biology Laboratory), Heidelberg, Germany

Sergey V. Salikhov	Director of the Department of the Ministry of Education and Science of the Russian Federation
Evgeny S. Severin	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of the All-Russia Research Center for Molecular Diagnostics and Therapy
Galina V. Sedel'nikova	PhD, Professor, Deputy Director of the Central Research Institute of Geological Prospecting for Base and Precious Metals
Sergey B. Seredenin	Academician of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of the Institute of Pharmacology of the RAMS named after V.V. Zakusova
Vitaliy I. Shvets	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, M.V. Lomonosov Moscow State Academy of Fine Chemical Technology, Chairman of the Contest of Young Scientists
Victor S. Shevelukha	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Russian State Agrarian University - Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazev
Konstantin A. Shestibratov	PhD, M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
Irina A. Shiryaeva	The Head of Department Ecology Police of Moscow Nature Management and Environment Protection Department
Sergey A. Shoba	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Dean of Soil Science Dept., M.V. Lomonosov Moscow State University
Vladimir G. Sister	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences
Konstantin G. Skryabin	Academician of the Russian Academy of Sciences, Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of Center "Bioengineering" of the Russian Academy of Sciences
Tatiana A. Sokolskaya	PhD (Pharmacy), Professor, The First Deputy Director of Institute of VILAR of the Russian Academy of Agricultural Sciences
Evgeny I. Titov	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the Institute of Applied Biotechnology
Igor A. Tikhonovich	Academician of the Russian Academy of Agricultural Sciences, Director of the All-Russia Research Institute of Agricultural Microbiology of the Russian Academy of Agricultural Sciences, St.-Petersburg

Sergey A. Tsyb	PhD, Director of Chemical Processing Complex and Bioengineering Technologies of Ministry of Industry and Trade of the Russia Federation
Dmitry I. Tsyganov	PhD, Professor, The Head of Innovation and Intellectual Property of the Russian Academy of Sciences
Victor A. Tutelyan	Academician of the Russian Academy of Medical Sciences, Director of the Research Institute of Nutrition of the Academy of Medical Sciences Presidium
Sergey A. Usanov	Corresponding Member of the National Academy of Sciences of Belarus, Member of the Presidium of National Academy of Sciences of Belarus, Director of the Institute of Bioorganic Chemistry of NAS, Minsk, Belarus
Sergey D. Varfolomeyev	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director of N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics
Valentin V. Vlasov	Academician of the Russian Academy of Sciences (RAS), Professor, Director of the Institute of Chemistry Biology and Fundamental Medical of the RAS, Novosibirsk
Alexander S. Yanenko	PhD, Professor, Deputy Director of the State Research Institute of Genetics and Selection of Industrial Microorganisms
Boris G. Yudin	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, the Head of UNESCO project "Forum for bioethics"
Sergey K. Zavriev	Corresponding Member of the Russian Academy of Agricultural Sciences, M. M. Shemyakin and Yu. A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
Gennady A. Zharikov	PhD, Professor of Research Center of Toxicology and Hygienic Regulation of Biologicals of the Russian Federation Health Care Ministry

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОЭТИКА» 23
SEMINAR "BIOETHICS" 23

СЕКЦИЯ «БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНА» 26
SECTION "BIONANOTECHNOLOGIES AND MEDICINE" 26

СЕКЦИЯ «КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА» 33
SECTION "SELLUAR TECHNOLOGIES AND REGENERATIVE MEDICINE" 33

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОМЕДИЦИНСКАЯ ТЕХНИКА» 153
SEMINAR "BIOTECHNOLOGY AND MEDICAL EQUIPMENT" 153

СЕКЦИЯ «ИММУННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ» 166
SECTION "IMMUNE BIOTECHNOLOGY" 166

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ В ФАРМАЦИИ» 189
SECTION "BIOTECHNOLOGY IN THE PHARMACY" 189

СЕКЦИЯ «БИОИНФОРМАТИКА» 238
SECTION "BIOINFORMATICS" 238

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРОМЫШЛЕННОСТЬ» 264
SECTION "BIOTECHNOLOGY AND INDUSTRY" 264

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ КЛАСТЕРЫ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПЛАТФОРМЫ» 333
SECTION "BIOTECHNOLOGY CLUSTERS AND TECHNOGY PLATFORMS" 333

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ В СЕЛЬСКОМ И ЛЕСНОМ ХОЗЯЙСТВАХ» 347
SECTION "BIOTECHNOLOGY IN THE AGRICULTURE AND FORESTY" 347

ЗАСЕДАНИЕ В РАМКАХ СЕКЦИИ «БИОТЕХНОЛОГИЯ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ» 440
SESSION IN THE FRAME OF THE SECTION "BIOTECHNOLOGY IN ANIMAL BREEDING" 440

КРУГЛЫЙ СТОЛ «ЛЕСНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ: ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ К ИННОВАЦИЯМ» 474
SEMINAR "FOREST BIOTECHNOLOGY: FROM THE RESEARCH TO THE INNOVATIONS" 474

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОЭТИКА»
SEMINAR "BIOETHICS"

"BIOS": ЭТИКА И ТЕХНОЛОГИИ

Седова Н.Н.
ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет»,
400131, Волгоград, площадь Павших борцов,1,ВолгГМУ

Существует пять смыслов понятия bios: 1) естественнонаучный; 2) моральный; 3) социально-политический; 4) эстетический; 5) теологический. Bios является предметом биоэтики во втором смысле. Биоэтика – уникальное явление. С одной стороны, она базируется на достоверном объективном знании (науки о живом), а с другой стороны – она является нормативным регулятором, то есть практической установкой, во многом субъективизирующей это самое достоверное знание. Так, например, естественнонаучная составляющая биоэтических представлений о генной инженерии включает новое знание, полученное в результате расшифровки генома человека. Но это знание может быть использовано как во благо, так и во зло. Следовательно, прогностическая модель применения данного знания, представленная в биоэтике, должна охватывать все возможные последствия. Здесь очевидно противоречие между теоретической и практической составляющими конкретной биоэтической модели. Развитие знания запретить нельзя. Это закон. Теоретическое знание не может развиваться без технологического подтверждения/опровержения своих выводов. Это тоже закон. Следовательно, нормативная часть, которая, собственно, и служит основанием для юридических, политических и всяких прочих социальных вариантов использования данного знания, на практике соблюдаться не будет. Очевидно, что в ситуации дуализма фактов и норм и предложения, фиксирующие факты, и предположения, предлагающие линии поведения, включая принципы и нормы, могут быть открыты для рациональной дискуссии. Таким образом, биоэтику можно трактовать как дискурс, в результате которого вырабатываются установки на определенное поведение в отношении живого (вообще и живых объектов в частности), отклоняющиеся как от научной истины, так и от нравственной нормы, если истина и норма находятся в противоречии. Но это означает, что биоэтика сама становится «этической технологией» и только в этом качестве может обслуживать развитие биотехнологий.

"BIOS": ETHICS AND TECHNOLOGIES

Sedova N.N.
Volgograd State Medical University, Russia.
VolgGMU, pl. PavshikhBortzov, 1, Volgograd, 400131, Russia.

There are five senses of concept «bios»: 1) the natural-science; 2) the moral; 3) the sociopolitical; 4) the aesthetic; 5) the theological. «Bios» is a bioethics subject in the second sense.

Bioethics is a unique phenomenon. On the one hand, it is based on reliable objective knowledge (the science about the living), and on the other hand – it is a normative regulator, almost a practical guideline subjectivizing this reliable knowledge in many respects. So, for example, the natural science component of the bioethical notions of genetic engineering includes the new knowledge gained as a result of human genome decoding. But this knowledge can be used both for good and for evil. Therefore, the predictive model of its application presented in bioethics, should cover all the possible consequences. A contradiction between the theoretical and practical components of a particular

bioethics model is obvious here. The development of the knowledge cannot be prohibited. It's the law. Theoretical knowledge cannot develop without the technological confirmation/refute of its conclusions. This is also the law. Accordingly, a regulatory part which, in fact, is the basis for the legal, political and any other social uses of this knowledge will not be respected in practice. Obviously that in the situation of dualism of facts and rules both the assumptions, fixing the facts and assumptions, offering a line of conduct, including the principles and norms, may be open to rational discussion. Thus, bioethics can be interpreted as a discourse, as the result of which the directives for a certain behavior towards the living (in general and living objects in particular) are developed which are apart both from scientific truth and moral standard if the truth and the standard contradict each other. But it means that the bioethics itself becomes «ethical technology» and it can serve development of biotechnologies only in this quality.

НОРМЫ МОРАЛИ И НОРМЫ ПРАВА В БИОТЕХНОЛОГИИ: ОТНОШЕНИЕ ГОСУДАРСТВ МИРА К КЛОНИРОВАНИЮ ЧЕЛОВЕКА

Косовский Г.Ю., Колмычкова К.И., Футочкина В.А.

Государственное научное учреждение Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий Российской академии сельскохозяйственных наук г. Москва, e-mail: info@ceerb.ru

Ян Уилмут (Wilmut I.) заложил теоретическую базу клонирования животных. Из 277 реконструированных яйцеклеток был получен только один живой ягненок (Долли), при этом сохраняется высокий риск генетических аномалий развития плода. Поэтому в настоящее время клонирование человека официально запрещено в США, Франции, Германии и Японии. Во Франции ответственность за клонирование была внесена в соответствии с Законом о биоэтике от 6 августа 2004 г. (закон no.2004-800) . Федеральный закон ФРГ о защите эмбрионов 1990 г. называет преступлением создание эмбриона, генетически идентичного другому эмбриону, происходящему от живого или мертвого лица. В Великобритании соответствующие уголовные нормы содержит Закон о репродуктивном клонировании человека 2001 г. (Human Reproductive Cloning Act 2001), который предусматривает санкцию в виде 10 лет лишения свободы. При этом терапевтическое клонирование человека разрешено . В США запрет на клонирование впервые был введен еще в 1980 г. В 2003 г. Палата представителей Конгресса США приняла закон (Human Cloning Prohibition Act of 2003), по которому клонирование, нацеленное как на размножение, так и на медицинские исследования и лечение, рассматривается как преступление с возможным 10-летним тюремным заключением и штрафом в 1 млн. Долларов . В Японии парламентом 29 ноября 2000 г. был принят «Закон, регулирующий применение технологии клонирования человека и других сходных технологий», содержащий уголовные санкции. В Российской Федерации действует бессрочный мораторий "О временном запрете на клонирование человека" от 20 мая 2002 г. № 54 -ФЗ. Согласно ст. 4 Закона, лица, виновные в его нарушении, несут ответственность в соответствии с законодательством Российской Федерации.

MORAL AND LEGAL STANDARDS IN BIOTECHNOLOGY: WORLD'S VIEWS ON HUMAN CLONING

Kosovsky G.Y., Kolmychkova K.I ., Futochkina V.A .
Centre of experimental embryology and reproductive biotechnology
Russian Academy of Agricultural Sciences
127422, Moscow, ul. Kostyakova, d. 12, str. 4, Russia
e-mail: info@ceerb.ru

The theoretical foundation for mammalian cloning was set by Ian Wilmut. However, only one living lamb (Dolly) was obtained from 277 of reconstructed oocytes. At the same time, risk of genetic anomalies in fetus development remained high. Hence human cloning is now officially banned in USA, France, Germany and Japan. In France, liability for human cloning was introduced according to Bioethics Law of August 6, 2004 (the Bioethics Law no.2004-800). German Embryo Protection Act (Gesetz zum Schutz von Embryonen) of 1990 considers creation of an embryo genetically identical to another embryo obtained from living or dead human being to be a criminal offence. Appropriate legal regulations of human cloning can also be found in British Human Reproductive Cloning Act of 2001, which *provides a penalty of 10 years in jail*. However, the therapeutic human cloning is allowed. The first prohibition of cloning in the USF was introduced back in 1980. In 2003, In 2003, the United States *House of Representatives* passed Human Cloning Prohibition Act, according to which cloning either for reproductive purposes, or for medical research and medical treatment, are now considered a criminal offence with a possible penalty of 10 years and a one million dollar fine. Japanese parliament enacted The *Law* Concerning Regulation Relating to Human *Cloning* Techniques and Other Similar Techniques on November 29, 2000. This law provides a penalty for several types of manipulations with human embryo. In the Russian Federation, the moratorium on reproductive cloning (The Law № 54 FZ "On *temporary* prohibition of *human cloning*" of May 20, 2002) was prolonged indefinitely. According to section 4 of the Law, persons found guilty of violating the Law bear responsibility in accordance with the legislation of the Russian Federation.

СЕКЦИЯ «БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНА»
SECTION "BIONANOTECHNOLOGIES AND MEDICINE"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ L-ДОФА В НАНОФОРМЕ В РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ

Кондрашева И.Г.[1], **Антипова Т.А.**[1], **Гамбарян П.Е.**[2], **Барсегян Г.Г.**[1], **Гусева А.А.**[2], **Каменский А.А.**[2]
[1]*Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения*
Москва, 117149, Симферопольский б-р, д. 8.
[2]*МГУ им. М.В. Ломоносова, биологический факультет,*
кафедра Физиологии человека и животных
Москва, 119991, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

Введение. L-3,4-дигидроксифенилаланин (L-ДОФА) является стандартным препаратом в терапии болезни Паркинсона (БП). Низкая биодоступность L-ДОФА и развитие побочных эффектов при хроническом введении приводят к снижению эффективности терапии. Включение L-ДОФА в наночастицы на основе сополимера молочной и гликолевой кислот (PLGA, 50/50) позволит увеличить эффективность терапии за счет оптимизации метаболизма и повышения биодоступности препарата.

Материалы и методы. Нано-L-ДОФА синтезировали методом двойных эмульсий. Эффективность терапии БП исследовали на крысах линии Wistar (масса тела 320±20г) с фармакологически индуцированной БП после одностороннего разрушения s.nigra введением 10 мкг 6-OHDA. Для анализа координации движений использовали тесты: «постановка конечности», «горизонтальная сетка» и др. Развитие нейродегенерации подтверждали через три недели после введения токсина, регистрируя вызванные введением апоморфина (1,6 мг/кг) вращения.

Результаты. Обнаружено достоверное улучшение показателей координации животных с БП после ежедневного назального введения нано-L-ДОФА в дозе 0,35 мг/кг (по L-ДОФА) начиная с 8-го дня терапии, в то время как L-ДОФА был достоверно эффективен лишь после первого введения. К 22-му дню эксперимента, через 30 мин после введения препаратов, показатели координации у контрольных животных с БП составили 58±15%, в группе с L-ДОФА – 68±7%, с нано-L-ДОФА – 94±12% от значений здорового контроля.

Вывод. Включение L-ДОФА в наночастицы достоверно повышает эффективность препарата, а назальное введение позволяет снизить эффективную дозу при хроническом введении, что может иметь важное практическое значение.

THE RESEARCH OF L-DOPA'S NANOPARTICLE FORM BIOLOGICAL EFFECTS IN DIFFERENT MODEL SYSTEMS

I.G. Kondrasheva[1], **T.A. Antipova**[1], **G.G. Barsegyan**[1], **P.Ye. Gambaryan**[2], **A.A. Guseva**[2], **A.A. Kamensky**[2]
[1]*Research Center of Molecular Diagnostics & Therapy,*
Moscow, Russia, 117149, 8 Simpheropolsky blvd.
[2]*Moscow State University, Moscow, Russia, 119991, 1/12, Leninskie Gory.*

Introduction. L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) remains the gold standard in the drug

treatment of Parkinson's disease (PD). But drug's low bioavailability and side effects development during the therapy lead to decrease in the treatment efficacy. Inclusion of L-DOPA in the nanoparticles developed on the basis of poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA 50/50) allows to increase the treatment's efficacy by optimizing metabolism and improving the drug's bioavailability.

Materials and methods. Nano-L-DOPA was synthetized with double emulsion method. The therapy's efficacy was examined on Wistar rats 320±20 g weight with pharmacologically induced PD after one side s. nigra lesion (by injecting 10 µg of 6-OHDA). Coordination tests such as forelimb placing and grid walking were used. Neurodegeneration development was proved with apomorphine induced (1.6 mg/kg) rotation test three weeks after the lesion.

Results. Significant coordination performance improve was detected by the 8th day of therapy in the group of animals, that received daily nasal nano-L-DOPA introduction (0.35 mg/kg by L-DOPA). Otherwise standard L-DOPA (0.35 mg/kg) was significantly effective only after its first introduction. By the 22th day of therapy coordination performance (30 min after drug's introduction) was 58±15% – control animals with PD, 68±7% – L-DOPA treated animals, 94±12% – nano-L-DOPA treated animals (to the healthy animals results).

Conclusion. Thereby, inclusion of L-DOPA in the nanoparticles significantly improves drug's efficacy, and nasal introduction allows to lower chronic treatment effective drug dose, which may show important practical application.

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ МУЛЬТИФОРМНОЙ ГЛИОБЛАСТОМЫ МЕТОДОМ МРТ С ПОМОЩЬЮ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ, КОНЮГИРОВАННЫХ С МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ К ФАКТОРУ РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДА

Абакумов М.А.[1], **Сандалова Т.О.**[1], **Нуколова Н.В.**[2], **Шеин С.А.**[1,2], **Гриненко Н.Ф.**[2], **Вишвасрао Х.**[3], **Сокольски-Папков М.**[3], **Кабанов А.В.**[3,4], **Чехонин В.П.**[1,2]

[1]*ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Кафедра и Отдел медицинских нанобиотехнологий, Москва, Россия*

[2]*ФГБУ «Государственный научный центр социальной и судебной психиатрии им. В.П. Сербского»Минздрава России. Отдел фундаментальной и прикладной нейробиологии, Москва, Россия*

[3]*Факультет фармакологии Эшельмана, Университет Северной Каролины-Чапель Хилл, Чапель Хилл, США*

[4]*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Химический факультет, кафедра химической энзимологии, Москва, Россия*

Магнитные наночастицы оксида железа (МНЧ) в последнее десятилетие всё более активно используются в медицине в качестве контрастных агентов для магнитно-резонансной томографии (МРТ). Их перспективность обуславливается высокой контрастирующей способностью, а также разнообразием полимерных покрытий, что позволяет проводить их дополнительную модификацию практически любыми векторными компонентами для обеспечения адресной доставки в орган-мишень. Целью данной работы являлось получение биосовместимых МНЧ, конъюгированных с моноклональными антителами к фактору роста эндотелия сосудов (VEGF) и оценка их эффективность в визуализации экспериментальной глиомы С6 у крыс. Получение МНЧ проводили термическим разложением ацетилацетоната железа (III). Для стабилизации водных коллоидных растворов МНЧ использовали бычий сывороточный альбумин с последующей межмолекулярной сшивкой белковой оболочки глутаровым альдегидом. Полученные

частицы обладали T2 релаксивностью равной 270±10 $мМ^{-1}с^{-1}$ и не оказывали негативного эффекта на жизнедеятельность клеток нормальных астроцитов крысы вплоть до концентрации 2, 5 мг/мл. Размер полученных наночастиц составлял 90±5 нм, а ζ-потенциал был равен -35±4 мВ. Радиоизотопный анализ распределения МНЧ-БСА по организму крыс после в/в введения показал, что частицы преимущественно накапливаются в печени, а выведение из крови осуществляется в 2 фазы: быстрая с периодом полувыведения равным 10 минутам и медленная с периодом полувыведения 1 час. После конъюгации с моноклональными антителами к VEGF иммунохимическая активность полученных конъюгатов (МНЧ-MAbVEGF) была оценена методами твердофазного ИФА и иммуноцитохимии на фиксированной культуре клеток глиомы С6, которые показали более высокую тропность МНЧ-MAbVEGF к рекомбинантному антигену и клеткам глиомы С6, чем подобные конъюгаты с неспецифическими иммуноглобулинами (МНЧ-БСА-IgG).

Через 5 минут после внутривенного введения как МНЧ-MAbVEGF, так и МНЧ-БСА-IgG наблюдается визуализация сосудов опухоли, связанная с накоплением контрастного вещества в кровотоке, тогда как через 24 часа контрастирование опухоли наблюдается, только в случае введения МНЧ-MAbVEGF, что объясняется их связыванием с антигеном, чья экспрессия повышена в тканях опухоли. Таким образом, подобный контрастный агент позволяет не только визуализировать сосудистую сеть опухоли, но и очаги неоангиогенеза, где экспрессия VEGF максимальна.

Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации 11G34.31.0004 от 30.11.2010 г.

VISUALIZATION OF GLIOBLASTOMA MILTIFORME WITH HELP OF MAGNETIC NANOPARTICLES, CONJUGATED WITH MONOCLONAL ANTIBODIES TO VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR BY MRI TECHNIQUE

Abakumov M.A.[1], Sandalova T.O.[1], Nukolova N.V.[2], Shein S.A.[1,2], Grinenko N.F.[2], Vishvasrao H.[3], Sokolsky-Papkov M.[3], Kabanov A.V.[3,4], Chekhonin V.P.[1,2]

[1]*Russian State Medical University,*
Chair of medical nanobiotechnology, Moscow, Russia.
[2]*Center for Social and Forensic Psichiatry,*
Department of fundamential and applied neirobiology, Moscow, Russia
[3]*Eshelman School of Pharmacy,*
University of North Carolina-Chapel Hill, Chapel Hill, USA
[4]*Moscow State University, Department of Chemistry,*
Chair of Chemical enzimology, Moscow, Russia

Iron oxide magnetic nanoparticles (MNP) as a MRI contrast agents becomes more demanded with each decade. High activity of iron oxide nanoparticles as a MRI contrast agent and wide variety of polymer coating allow their conjugation with different vector molecules for targeted delivery to organ of interest. Aim of this work was to synthesize biocomaptible MNP, conjugated with monoclonal antibodies to vascular endothelial growth factor (VEGF) and to show their efficiency in visualization of rat experimental glioma C6. MNP were synthesized by thermal decomposition of iron (III) acetylacetonate. For stabilization of water colloidal solutions of MNP was used bovine serum albumin with following crosslinking of protein molecules by glutaric dialdehyde. T2 Relaxivity of obtained nanoparticles (MNP-BSA) was equal to 270±10 mM-1s-1 and they didn't show any toxic effects on normal rat astrocytes at concentrations up to 2,5 mg/ml. Size and ζ-potential of MNP BSA was 90±5 nm and

-35±4 mV respectively. Radioisotope analysis of MNP-BSA distribution after i/v injection shown that nanoparticles are taken by liver, however excretion from blood have to phases: fast with half-life period 10 minutes and slow with half-life period 1 h. After conjugation with monoclonal antibodies to VEGF immunochemical activity of obtained vectorized nanoparticles (MNP-BSA-MAbVEGF) was evaluated by ELISA and immunofluorescent analysis on fixed glioma C6 cells. By both methods MNP-BSA-MAbVEGF had shown higher specifity to recombinant VEGF and glioma C6 cells then MNP-BSA conjugates with nonspecific murine IgG (MNP-BSA-IgG).

5 minutes after i/v injection of both MNP-BSA-MAb-VEGF and MNP-BSA-IgG MR scnas show tumor vessels visualization that is dealt with accumulation in blood stream, however 24 hours after i/v injection tumor tissue visualization can be observed only in case of MNP-BSA-MAb-VEGF, because of their interaction with VEGF, that is overexpressed in tumor tissue.

Thus we have shown that such targeted contrast agents can visualize not only tumor vessels but also areas of neoangiogenesis, where VEGF expression is high.

Work was supported by Grant of Russian Federation government 11G34.31.0004 (30.11.2010 г.).

КОМПЛЕКСНЫЕ ПОДХОДЫ К ПОЛУЧЕНИЮ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Краснопольский Ю.М., Балабаньян В.Ю., Шоболов Д.Л., Швец В.И.
ООО «Технология лекарств», г. Москва
Московская область, ХИМКИ, ул. Рабочая 2А

Создание искусственных мембран липосом (Лс) является одним из перспективных направлений нанобиотехнологии. По нашим данным Лс препараты (ЛсП) обладают преимуществами: защищают клетки организма от токсического действия лекарственных средств (ЛС), пролонгируют действие введенного в организм ЛС, защищают ЛС от деградации, способствуют проявлению нацеленной специфичности за счет селективного проникновения из крови в ткани, что приводит к избирательной их концентрации в зоне очага поражения, изменяют фармакокинетику ЛС, повышая их фармакологическую эффективность, позволяют создать инъекционную форму ряда гидрофобных ЛС, увеличивая их биодоступность. В ходе проведенных работ по созданию ЛсП нами накоплен опыт по их разработке и промышленному производству. Нами поставлена задача по разработке технологии получения ЛсП (доцетаксела, иринотекана, рифабутина и др.) и изучению их фармакологических свойств. Для решения этой задачи организована специализированная лаборатория по созданию опытно-промышленных образцов ЛсП, позволяющая получать ЛсП и проводить исследования их физико-химических свойств. Включение ЛС в Лс проводили методами: прямым введением субстанции в бислой Лс; за счет создания градиента pH или ионной силы; получение Лс с использованием отрицательно заряженных фосфолипидов и др. Для определения уровня включения ЛС в Лс использовали: центрифугирование; гель-хроматографию; ультрафильтрацию. В зависимости от способа получения, состава и используемого ЛС, включение в Лс составляло 75-95%. Проведено изучение оптимальных условий лиофилизации и подбор криопротектора, в качестве которых использованы сахара: лактоза, трегалоза, сахароза и др. Размер частиц в лиофилизированных препаратах находится в нанодиапазоне 80-185 нм. Предложен состав и разработаны основные этапы технологии получения ЛсП. В результате проведенных исследований предложены технологические схемы получения ЛсП для использования в онкологии, кардиологии, офтальмологии. Рассмотрены основные факторы риска в технологии.

COMPLEX APPROACHES TO OBTAINING OF LIPOSOME DRUG PREPARATIONS

Yu.M. Krasnopolsky, V.Yu. Balabanyan, D.L. Shobolov, V.I. Shvets
Tekhnologiya Lekarstv LLC, Moscow
Moscow region, Rabochaya str. 2A

Creation of artificial liposome membranes (Ls) is one of the promising directions of modern nanobiotechnology. Liposomal preparations (LsP) have a range of indubitable advantages: protect organism's cells from toxic effect of medicaments (M); prolong the action of M injected into the organism; protect drugs from degradation; facilitate the targeted specificity by means of selective penetration from blood to tissues that leads to their selective concentration in zone of diseased area; change pharmacokinetics of M increasing their pharmacological efficiency; make it possible to create water-soluble form of a range of hydrophobic M thereby increasing their bioavailability.

In our previous works on LsP workout we accumulated much experience in their development and large-scale manufacture. We staked a purpose to develop manufacturing process of LSPs (docetaxel, irinotecan, rifabutin, etc.) and to study their pharmacological properties.

We organized a special laboratory to this end where we could obtain LsP pilot samples and study their physico-chemical properties. M was included to LsPs by such methods: direct intromission of substance to Ls bilayer; creation of pH or ionic force gradient; Ls obtaining with the help of negatively charged phospholipides, etc. The level of M inclusion to Ls was measured by centrifuging, gel chromatography, ultrafiltration. Depending on manufacturing process, composition and applied M the degree of M inclusion to Ls was within the range of 75-95%. Optimal lyophilization conditions were studied and cryoprotectors selected to be sugars: lactose, tregalose, sucrose, etc. Particle size in lyophilized preparations lies within a Nano range 80 to 185 nm. We proposed the composition and development basic stages of LsP manufacturing process. Our research was a basis for development of LsP manufacturing schemes to be applied in oncology, cardiology, and ophthalmology.

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ЛИПОСОМЫ С ЛИПОФИЛЬНЫМИ ПРОЛЕКАРСТВАМИ

Водовозова Е.Л.[1], Кузнецова Н.Р.[1], Моисеева Е.В.[1], Бовин Н.В.[1], Степанова Е.В.[2]
[1]*ИБХ РАН, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, 117997, Москва*
[2]*РОНЦ РАМН, Каширское шоссе, 24, 115478, Москва*

С целью улучшения фармакологических свойств химиотерапевтических средств предложено включать их в виде липофильных пролекарств (*ЛП)* – сложно-эфирных конъюгатов липид-лекарство – в липидный бислой липосом диаметра примерно 100 нм. На основе яичного фосфатидилхолина и фосфатидилинозита из *S. cerevisiae* получены препараты липосом с *ЛП* известных противоопухолевых средств – метотрексата и мелфалана (L-сарколизина), – а также с *ЛП* нового антиваскулярного агента комбретастатина А-4. Стандартный метод экструзии смеси компонентов через калиброванные ядерные фильтры при 20-25°С позволяет получить липосомы с емкостью загрузки *ЛП* 10-15 мольн. %. Дисперсии содержат достаточные концентрации *ЛП*, чтобы оказывать терапевтический эффект при системном введении животным. Показано *in vitro*, что *ЛП* в липосомальных формах устойчивы к преждевременному гидролизу эстеразами плазмы крови человека. Для обеспечения адресной доставки к ангиогенному эндотелию опухолей липосомы оснащены тетрасахаридным лигандом селектинов $SiaLe^X$. Селектины экспрессируются на активированных лейкоцитах, тромбоцитах и эндотелиальных клетках. На моделях рака молочной железы и лимфолейкозов мышей показано, что липосомальные препараты *ЛП* подавляют рост опухолей и увеличивают продолжительность жизни эффективнее интактных лекарств, причем эффект особенно усиливается при введении в липосомы $SiaLe^X$-конъюгата. На

модели карциномы легких Льюис показано, что SiaLe^X-липосомы, нагруженные *ЛП* мелфалана, обладают выраженным антиваскулярным и/или антиангиогенным противоопухолевым действием, а также умеренно ингибируют метастазирование. Установлено *in vitro*, что липосомы с *ЛП* мелфалана и метотрексата, в том числе SiaLe^X-липосомы, гемосовместимы; использование фосфатидилинозита как компонента, стабилизирующего липосомы в кровотоке, позволяет избежать побочных эффектов, связанных с иммуногенностью и токсичностью конъюгатов полиэтиленгликоля с фосфолипидами.

ANTITUMOR LIPOSOMES LOADED WITH LIPOPHILIC PRODRUGS

Vodovozova E.L.[1], **Kuznetsova N.R.**[1], **Moiseeva E.V.**[1], **Bovin N.V.**[1], **Stepanova E.V.**[2]
Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, RAS,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, 117997 Moscow, Russia;
[2]*Blokhin Russian Cancer Research Center, RAMS,*
Kashirskoe sh. 24, 115478 Moscow, Russia

To improve pharmacological properties of chemotherapeutical medicines, it is suggested to include them in the form of lipophilic prodrugs (*LPs*, ester drug-lipid conjugates) in the lipid bilayer of 100-nm-liposomes. Liposome preparations on the basis of egg phosphatidylcholine and phosphatidylinositol from *S. cerevisiae* bearing *LPs* of well-known antitumor remedies such as methotrexate and melphalan (L-sarcolysine), as well as *LP* of new antivascular agent for anticancer therapy combretastatin A-4 were designed. Standard extrusion of the mixture of all components through calibrated nuclear filters at 20-25°C yields liposomes with loading capacity 10-15 mol. % of *LPs*. The dispersions contain relevant concentrations of *LPs* to be effective in the therapy by systemic injections to animals. It was shown *in vitro* that *LPs* in liposomal formulations are stable to the premature hydrolysis by human plasma esterases. To achieve targeting to the angiogenic tumor endothelium, liposomes are equipped with tetrasaccharide selectin ligand SiaLe^X. Selectins are expressed on the activated leucocytes, platelets, and endothelium cells. In the mouse models of mammary cancer, and lymphoma/leucosis liposomal formulations of the *LPs* inhibited tumor growth and prolonged the survival more efficiently than the intact drugs, the effect being particular strong when SiaLe^X-conjugate was included in liposomes. On the model of Lewis lung carcinoma, SiaLe^X-liposomes loaded with *LP* of melphalan were shown to provoke expressed antivascular and/or antiangiogenic antitumor effect. Also, they revealed moderate inhibition of metastasis formation. In the *in vitro* tests liposomes loaded with *LPs* of melphalan and methotrexate, including SiaLe^X-liposomes were shown to be hemocompatible; employment of phosphatidylinositol for the stabilization of liposomes in circulation permits to avoid side effects related to immunogenic and toxic properties of polyethylene glycol conjugated phospholipids.

РАЗРАБОТКА ПОЛИМЕРНОЙ НАНОКОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ СИЛИБИНА

Заварзина В.В.[1], **Арсенкова О.Г.**[2], **Василенко Е.А.**[2], **Северин Е.С.**[1]
[1]*МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы д.1*
[2]*ООО «Компания Вилана», 119435, Москва, Погодинская д.24, стр.1*

Силибин является основным компонентом комплекса флаволигнанов под названием силимарин, получаемого на основе экстракта из плодов расторопши пятнистой (Silybum marianum). Многочисленные экспериментальные и клинические исследования подтверждают антиоксидантный, цитопротективный, *противовоспалительный и антифибротический* эффекты си-

либина. Недостатком силибина является низкая биодоступность при пероральном приеме вследствие малой растворимости в воде и плохой всасываемости в желудочно-кишечном тракте. Включение плохорастворимых лекарственных веществ в наночастицы позволяет повысить их биодоступность и оптимизировать фармакокинетику.

Силибин включали в состав полимерных наночастиц на основе биодеградируемых полилактидгликолидов (poly lactic-co-glycolic acid, PLGA) с использованием метода приципитации. Для достижения эффективных параметров включения силибина, подбирали оптимальный состав полимерной композиции и варьировали технологические параметры. При подборе состава использованы различные полимеры (PLGA 50/50 COOH, PLGA 50/50, PLGA 75/25) и стабилизаторы эмульсий (поливиниловый спирт – ПВС, сывороточный альбумин). В качестве оптимального образца выбрана полимерная нанокомпозиция (НК-Сб) на основе силибина, PLGA 50/50, ПВС и D-маннита с содержанием действующего компонента 6,5±0,5%. Средний размер частиц составлял 220±50 нм.

Цитопротективную активность НК-Сб исследовали в модели *in vitro* на клетках гепатомы человека линии HepG2 в присутствии токсических агентов (тетрахлорметан или изониазид). Обнаружено, что цитопротективная активность НК-Сб была достоверно выше относительно активности свободного силибина на 72,5% и 54% в случае воздействия тетрахлорметана или изониазида, соответственно (при концентрации силибина 125 мкг/мл). Таким образом, показано, что применение силибина, включенного в состав полимерной нанокомпозиции, позволяет повысить цитопротективную активность препарата в условиях токсического воздействия.

DEVELOPMENT OF POLYMERIC NANOCOMPOSITION BASED ON SILYBIN

Zavarzina V.V.[1], Arsenkova O.G.[2], Vasilenko E.A.[2], Severin E.S.[1]
[1]*M.V.Lomonosov Moscow State University,*
119991, Russia, Moscow, Leninskie Gory, 1
[2]*«Company Vilana»,*
119435, Russia, Moscow, Pogodinskaя, 24/1

Silybin is the major active component of the complex of flavonolignans called silymarin, derived on the basis of an extract from seeds of milk thistle (Silybum marianum). Numerous experimental and clinical studies confirm antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and antifibrotic effects of silybin. The disadvantage of silybin is the low oral bioavailability due to low water solubility and poor absorption by the gastrointestinal tract. The incorporation of poorly water-soluble drugs in nanoparticles improves their bioavailability and optimizes pharmacokinetics.

Silybin loaded polymeric nanoparticles based on poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) was prepared using a precipitation method. The optimal composition of the polymeric nanoparticles and technological parameters were selected to achieve the effective parameters of silybin incorporation. Different polymers (PLGA 50/50 COOH, PLGA 50/50, PLGA 75/25) and emulsion stabilizers (polyvinyl alcohol – PVA, albumin) have been used. Polymeric nanocomposition (NC-Sb) based on silybin, PLGA 50/50, PVA and D-mannitol with the content active component 6,5 ± 0,5% was selected as the optimal sample. The mean size of particles was 220 ± 50 nm.

Cytoprotective activity of NC-Sb was investigated on the *in vitro* model HepG2 human hepatoma cell line in the presence of toxic agents (carbon tetrachloride or isoniazid). It was shown that cytoprotective activity of NC-Sb was 72.5% and 54% higher as compared with of free silybin in the case of exposure to carbon tetrachloride or isoniazid, respectively. Thus, it was demonstrated that the application of polymeric nanoparticles with silybin enhanced cytoprotective activity of the drug in conditions of toxic exposure.

СЕКЦИЯ «КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА»
SECTION "SELLUAR TECHNOLOGIES AND REGENERATIVE MEDICINE"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И ПЛАЦЕНТЫ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Гомзяков А.Е.[1], **Шахпазян Н.К.**[1], **Круглова Я.А.**[1], **Боякова Е.В.**[1], **Скоробогатова Е.В.**[2], **Астрелина Т.А.**[1], **Яковлева М.В.**[1]

[1]*Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Банк стволовых клеток Департамента Здравоохранения города Москвы», 115541г. Москва, ул. Бакинская,31;*

[2]*ФГБУ Российская детская клиническая больница Минздравсоцразвития, 117513г. Москва, ул. Ленинский проспект,117*

Цель исследования: провести сравнительный оценку биологических характеристик мезенхимальных стволовых клеток (МСК) костного мозга (КМ) и плаценты (Пл) для клинического применения.

Материалы и методы. Были заготовлены МСК из 100 образцов КМ здоровых доноров и 65 образцов Пл, здоровых женщин по стандартной методике. На ранних пассажах (2-6 пассаж) проводили определение поверхностных клеточных маркеров МСК методом проточной цитофлюориметрии. Определяли пролиферативный индекс МСК на каждом пассаже до 10 пассажа. Проводили бактериологический, вирусологический контроль и кариотипирование МСК (20-30 метафаз) на 4-5 и 9-10 пассажах.

Результаты. Плотность МСК в культуральном флаконе составила 4500 – 5700 клеток/см^2. Показано, что МСК Пл по сравнению с МСК КМ обладают достоверно высоким пролиферативным индексом на протяжении 10 пассажей (5,82±3,09 и 3,51±2,17, соответственно, $p<0,001$). Пролиферативный индекс в МСК КМ снижался к поздним пассажам (4,3±2,52 на 1-3 пассаже, 2,26±1,4 на 9-10 пассаже, $p<0,001$)), а в МСК Пл к поздним пассажам достоверно не изменялся (5,92±3,45 на 1-3 пассаже; 4,82±2,77 на 9-10 пассаже, $p=0,127$). Отмечался характерный уровень экспрессии поверхностных маркеров для клеток мезенхимального происхождения и не было выявлено различий для МСК КМ и МСК Пл. Заготовка доз МСК для клинического применения проводилась на 2-6 пассаже медиана для МСК КМ составила 4 пассаж, для МСК Пл – 4,5 пассаж. Не было выявлено потенциально опасных для пациентов инфекционных и генетических отклонений в МСК-КМ и МСК-Пл.

Заключение. Таким образом, МСК-Пл по сравнению с МСК-КМ обладают высоким пролиферативным индексом, что является важным для получения достаточной дозы для клинического применения уже на 4 пассаже культивирования.

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MESENCHYMAL STEM CELLS FROM BONE MARROW AND PLACENTA FOR CLINICAL USE

Gomzyakov A.E.[1], Shakhpazyan N.K.[1], Kruglova Ya.A.[1], Boayakova E.V.[1], Skorobogatova E.V.[2], Astrelina T.A.[1], Yakovleva M.V.[1]

[1]*Moscow Department of Public Health Moscow Stem Cell Bank,*
address: Bakinskaya street, 31 Moscow, Russia, 115541;
[2]*Russian Children's Clinical Hospital·Health Ministry of Russia ,*
address: Leninskiy prospect, 117, Moscow, Russia, 115541

Aim: To compare the biological characteristics of mesenchymal stem cells (MSCs) derived from bone marrow (BM) and the placenta (PL) for clinical use.

Materials and methods. MSCs were prepared from 100 BM samples from healthy donors and 65 PL samples from healthy women by standard methods. In the early passages (2-6 passage) cell-surface markers were determined by flow cytometry of MSCs. Determined the proliferative index of MSCs for each passage of expansion to 10 passages of MSCs. Bacteriological, virological and karyotyping (20-30 metaphases) of MSC was held on 4-5 and 9-10 passages.

Results. The MSCs density in the culture flask was 4500 - 5700 cells/cm2. Shown that of MSCs placenta compared with MSCs BM have significantly high proliferative index over 10 passages (5,82 ± 3,09 and 3,51 ± 2,17, respectively, p <0,001). Proliferative index in MSCs BM decreased to late passages (4,3 ± 2,52 for passage 1-3, 2,26 ± 1,4 for passage 9-10, p <0,001)), and the MSCs PL and the late passages not significantly changed (5,92 ± 3,45 for passage 1-3; 4,82 ± 2,77 for passage9-10, p = 0.127).

There was a characteristic expression levels of surface markers for cells of mesenchymal origin, and there were no significant differences for the MSCs BM and the MSCs PL. Harvesting doses cells for clinical application was held on 2-6 passage (median – 4 passage) for MSCs BM, 2-6 passage (median – 4.5 passage) for MSCs PL. There were no potentially infectious patients and genetic abnormalities in the MSCs BM and PL.

Conclusion. Thus, the MSCs PL compared to MSC BM have high proliferative index, which is important to obtain a sufficient dose at 4 passage of expansion for clinical use.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

Шахпазян Н.К.[1], Гомзяков А.Е.[1], Скоробогатова Е.В.[2], Астрелина Т.А.[1], Яковлева М.В.[1]

[1]*Государственное бюджетное учреждение здравоохранения*
«Банк стволовых клеток Департамента Здравоохранения города Москвы»,
адрес: 115541г. Москва, ул. Бакинская,31
[2]*ФГБУ Российская детская клиническая больница Минздравсоцразвития,*
адрес: 117513г. Москва, ул. Ленинский проспект,117

Цель исследования: представить данные по использованию мезенхимальных стволовых клеток (МСК) человека в клинической практике.

Материалы и методы. Проводили культивирование МСК костного мозга (Км) и плаценты (Пл) в течение 30-50 дней. Проводили бактериологический, вирусологический контроль. Определяли поверхностные клеточные маркеры МСК методом проточной цитофлюориметрии. Оценивали пролиферативный индекс МСК на каждом пассаже до 10 пассажа. Проводили кариотипирование МСК на 4-5 и 9-10 пассажах. После прохождения этического комитета проводили инфузию МСК Км и Пл 30 больным детям (4 - с ОЛЛ, 4 - ОМЛ, 1 - бифенотипическим

острым лейкозом, 4 - анемией Фанкони, 3 - апластической анемией, 1 - адренолейкодистрофией, 1 – синдромом Вискотт-Олдрича, 1 - ТКИН, 3 - лимфогистиоцитозом, 2 - ХМЛ, 5 - МДС и 1 - состеопорозом) и 10 взрослым пациентам (4 - с циррозом, связанный с HBV-инфекцией и 6 - первичным биллиарным циррозом печени).

Результаты. Показаниями для ко-трансплантации МСК Км (99 доз) были: трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) (в целях улучшения приживления ГСК и профилактики РТПХ) – 14, хроническая РТПХ – 2, острая РТПХ – 10, и гипофункция трансплантата ГСК – 4 случаев. Во всех случаях применения МСК Км были аллогенные, 5 доноров – родственники (родитель / сиблинг). Дозы МСК были 2; 1; 0,8 и 5,6 х млн./кг в 92; 5; 1 и 2 случаях соответственно. 9; 9; 4; 3; 1; 1; 2 и 1 пациентов получали 1; 2; 3; 4; 6; 8; 11 и 12 доз МСК соответственно для трансплантации. Все случаи применения МСК Пл (20 доз) у взрослых были аллогенными и использовались для регенерации печени и дифференциации в гепатоциты. Доза МСК Пл составила 2,0 млн./кг. Все пациенты получали по 2 дозы МСК Пл. Острых реакций во время и после инфузии МСК Км и Пл не наблюдалось.

Заключение. Таким образом, представленные данные показали возможность клинического применения аллогенных МСК Км и Пл человека, заготовленных с соблюдением строгого контроля качества и безопасности.

USE OF HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS IN CLINICAL PRACTICE

Shakhpazyan N.K.[1],**Gomzyakov A.E.**[1], **Skorobogatova E.V.**[2], **Astrelina T.A.**[1], **Yakovleva M.V.**[1]
[1]*Moscow Department of Public Health Moscow Stem Cell Bank,*
address: Bakinskaya street, 31 Moscow, Russia, 115541;
[2]*Russian Children's Clinical Hospital·Health Ministry of Russia ,*
address: Leninskiy prospect, 117, Moscow, Russia, 115541

Aim. The aim of the study was to present data on the use of human mesenchymal stem cells (MSCs) in clinical practice.

Materials and methods. MSCs were taken from bone marrow (BM) and placenta (PL) and expanded for 30 - 50 days *in vitro*. All samples were subjected to bacteriological and viral control. The MSCs' immunophenotypes were typical for cells of mesenchymal origin. Biological safety was evaluated by karyotyping in passages 4-5 and 9-10. The derived MSCs were presented in the native or frozen form. After protocol approval by the ethics committee, 30 child patients (4 with ALL, 4 AML, 1 biphenotypic acute leukemia, 4 Fanconi's anemia, 3 aplastic anemia, 1 adrenoleukodystrophy, 1 Wiskott-Aldrich syndrome, 1 SCID, 3 lymphohistiocytosis, 2 CML, 5 MDS and 1 osteopetrosis) and 10 adult patients (4 with chronic HBV-infection related cirrhosis and 6 with primary biliary cirrhosis) participated in the study.

Results. The indications for co-transplantation of MSCs from BM (99 doses) are: transplantation of HSC (in order to improve HSC engraftment and prevent GvHD) – 14, chronic GvHD – 2, acute GvHD – 10, and hypofunction of HSC transplants – 4 cases. In all cases allogeneic MSCs from BM were used, including 5 cases from relative donors (parent/sibling). The MSCs doses were 2; 1; 0.8 and 5.6 million per kg in 92; 5; 1 and 2 cases respectively. 9; 9; 4; 3; 1; 1; 2 and 1 patients received 1; 2; 3; 4; 6; 8; 11 and 12 doses of MSCs transplants respectively. All cases of MSCs from PL (20 doses) were adult allogeneic and used to regenerate the liver and differentiation into hepatocytes. The MSCs from PL dose was 2.0 million per kg. All patients received 2 doses MSCs. There were no acute reactions during and after the infusions of MSCs from BM and PL.

Conclusions. Thus, the presented data reflects the possibility of the clinical application of allogeneic human MSCs from BM and PL, harvested under strict quality and safety control.

КАЧЕСТВО И БЕЗОПАСНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХГЕМОП ОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ

Кобзева И.В.[1], Карпова Е.Э.[1], Круглова Я.А.[1], Боякова Е.Э.[1], Лебедева Л.Л.[1],Скоробогатова Е.В.[2],Паина О.В.[3],Астрелина Т.А.[1], Яковлева М.В.[1]

[1]*Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Банк стволовых клеток Департамента Здравоохранения города Москвы», 115541г. Москва, ул. Бакинская,31*

[2]*ФГБУ Российская детская клиническая больница Минздравсоцразвития, 117513г. Москва, ул. Ленинский проспект,117*

[3]*Институт детской гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой Санкт-Петербургского Государственного медицинского университета МЗ и СР РФ им. академика И.П.Павлова, 197022, г.Санкт-Петербург, улица Льва Толстого, 6/8*

Цель: оценить безопасность применения криоконсервированной пуповинной крови (ПК) при аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) у детей.

Материалы и методы. Было изъято 44 криоконсервированной ПК от 37 доноров (7 образцов – «деленные») из криокомплекса «BioArchive»за 2006-2010г. Все образцы ПК прошли бактериологический и вирусологический контроль. Оценивали количество клеток CD34+/CD45+, MNC, клоногенную активность (КОЕ-mix, КОЕ-(ГМ+Г+М)) ПКдо криохранения.

Результаты. Медиана количества клеток CD34+/CD45+ и MNC составила $73x10^5$(42-131,1) и $57,3x10^7$ (48-76) в 1 мл ПК соответственно, КОЕ-mix 8341,665 (2982,5-14795), КОЕ-(ГМ+Г+М) 21600 (14175-33153). Медиана криохранения образцов – 2 года (1-3). Проведено 24 трансплантации ПК от родственных и неродственных доноров 23 детям с различными заболеваниями. HLA-идентичных доноров было 6 (10/10 и 6/6), с расхождением по 1 антигену – 21 (9/10 и 5/6), по 2- м – 10 (8/10 и 4/6). В 14 случаях трансплантировалась 1 ПК, в 8-ми – 2 и в 2-х – 3 от разных доноров. Медиана объема ПК составила 39.18 (21-44.43) мл, медиана дозы MNC $16,5x10^7$ (6,1-19,5), клеток CD34+/CD45+ $7,4x10^5$ (3,8-10,15) на кг массы реципиента. Острых реакций на инфузию ПК не было. Первичное приживление отмечалось в 14 случаях (58,3%), неприживление в 10 (41,7%). Медиана восстановления гранулоцитопоэза на +24 день (20-31). О. РТПХ I-II степени развилась в 7 случаях, хроническая РТПХ – в 1-м.

Заключение: Таким образом, криоконсервированная ПК является полноценным источником ГСК, способнаявосстановить гемопоэз после миелоаблативной терапии.

QUALITY AND SAFETY WHEN USING CRYOPRESERVED HEMATOPOIETIC STEM CELLSOF UMBILICAL CORD BLOOD

KobzevI.V.[1], Karpova E.E.[1], Kruglova Ya.A.[1],Boyakova E.V.[1], Lebedeva L.L.[1], Skorobogatova E.V.[2], PainaO.V[3], Astrelina T.A.[1], Yakovleva M.V.[1]

[1]*Stem Cell Bank, Moscow, Russia;*

[2]*Russian Children's Clinical Hospital, Moscow, Russia;*

[3]*R.M. Gorbacheva Memorial Institute of Children Hematology and Transplantation, Pavlov State Medical University, St. Petersburg, Russia*

Aim. To estimate the quality and safety of umbilical cord blood samples (UCB) for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSC) in children.

Methods. Between 2006 and 2010 44 cryopreserved UCB samples from 37 donors (including 7 divided samples) were given to the cryocomplex "BioArchive". All samples were bacteriologically

and virally controlled. Before cryopreservation the level of CD34+/CD45+, MNC, and CFU activity (CFU-mix, CFU-(GM+G+M)) was assessed in each UCB sample.

Results**:** The median number of CD34+/CD45+ cells, MNC, CFU-mix and CFU-(GM +H+M) were 73x10^5 (42–131.1), 57.3 x10^7 (48–76), 8,341.665 (2,982.5–14,795) and 21,600 (14,175–33,153) in 1 ml of UCB, respectively. The median cryostorage time for samples was 2 years (1–3). Twenty-four UCB transplants from related and unrelated donors were performed in 23 children with various diseases. HLA-identical donor was 6 (10/10 and 6/6), with mismatch of 1 antigen, 21 (9/10 and 5/6); and of 2 antigens, 10 (8/10 and 4/6). One, 2 and 3 samples of the UCB from different donors were transplanted in 14, 8, and 2 cases respectively. The median volume of UCB was 39.18 (21–44.43) ml, the median dose of MNC and CD34+/CD45+ cells was 16.5 x10^7 (6.1–19.5) and 7.4 x10^5 (3.8–10.15) per kg of the recipient respectively. There were no severe adverse reactions to the infusion of UCB. Primary engraftment was in 14 (58.3%) cases, and no engraftment in 10 (41.7%) cases. The median time of granulocytes recovery was 24 days (20–31). Acute GVHD degree I–II developed in 7 cases, and chronic GVHD in one case.

Conclusions. The cryopreserved UCB samples are a good source of HSC, capable of restoring hematopoiesis after myeloablative therapy.

ВЫДЕЛЕНИЕ И КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭКСТРАЭМБРИОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ ПЛАЦЕНТЫ И ПУПОЧНОГО КАНАТИКА. ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ ИХ ЭПИТЕЛИОМЕЗЕНХИМНОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ

Колокольцова Т.Д.[1,2], **Нановская Т.А.**[1], **Ахмед М.С.**[1], **Верниковская Д.И.**[1], **Патрикеева С.Л.**[1], **Зурина И.М.**[2], **Горкун А.А.**[2], **Репин В.С.**[2], **Сабурина И.Н.**[2]

[1]*Техасский университет медицинское отделение, Галвестон, Техас, США*

[2]*ФГБУ НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, Россия*

Экстраэмбриональные ткани (ЭЭТ), такие как плацента, пупочный канатик и амниотическая жидкость рассматриваются как перспективные в качестве источника для выделения клеток и создания модели для исследования метаболизма и транспорта лекарственных препаратов, влияния на дифференцировку и метаболизм стволовых и прогениторных клеток. ЭЭТ доступны, не требуют инвазивных процедур для их получения, что позволяет решать этические проблемы. Вышеизложенное подчеркивает актуальность и целесообразность изучения условий выделения клеток из экстраэмбриональных тканей, их культивирования и изучения их свойств, включая эпителиомезенхимную пластичность.

Для выделения клеток использовали термальную плаценту после кесарева сечения и пупочный канатик, полученные при подписании информированного согласия.

В результате экспериментов были выделены и охарактеризованы культуры трофобластов и стромальных клеток Вартонова студня из пупочного канатика. Клетки, выделенные из ворсинок плаценты и культивированные в течение 10 пассажей *in vitro*, имели трофобласт характеризующий фенотип и оставались позитивными по экспресии цитокератина 7, Е-кадгерина и негативными по CD9. Клетки пупочного канатика имели фибробластоподобный фенотип и экспрессировали виментин, коллаген IV типа и гладкомышечный актин αSMA.

При монослойном культивировании трофобластов (2-D) наблюдалось изменение морфологических и фенотипических характеристик клеток под воздействием дексаметазона, Эквиола или DY131, что подтверждает их пластичность и возможность регуляции процесса эпителиомезенхимной трансформации клеток плаценты. Эпителиомезенхимная пластичность клеток пупочного канатика подтверждена в системе 3D культивирования при формировании сфероидов, в которых клетки поверхностного слоя начинали экспрессировать маркеры эпи-

телиальных клеток: Е-кадгерин и цитокератин 19, а также маркер недифференцированных клеток-нестин.

Проявленная эпителиомезенхимная пластичность делает культуры клеток, выделенные из экстраэмбриональных тканей, удобной моделью не только для экспериментальных исследований, но и альтернативным источником стволовых и прогениторных клеток для биотехнологии.

ISOLATION AND CULTIVATION OF EXTRA-EMBRYONIC CELLS FROM HUMAN PLACENTA AND UMBILICAL CORD BLOOD. CHARACTERIZATION OF THEIR EPITHELIAL MESENCHYMAL PLASTICITY

Kolokoltsova T.D.[1,2], **Nanovskaya T.N.**[1], **Ahmed M.S.**[1], **Vernikovskaya D.I.**[1], **Patrikeeva S.L.**[1], **Zurina I.M.**[2], **Gorkun A.A.**[2], **Repin V.S.**[2], **Saburina I.N.**[2]

[1]*Department of Obstetrics & Gynecology, University of Texas Medical Branch at Galveston, 301 University Blvd., Galveston, TX 77555-0587, USA*

[2]*The Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia*

Extra-embryonic tissues such as human placenta, umbilical cord blood as well as amniotic fluid can be used as a source of cells to develop *in vitro* models. These models can be used to study drug metabolism and transfer as well as process of differentiation of progenitor and stem cells. The advantage of the proposed approach is the availability and use of human discarded tissues thus avoiding ethical considerations. The goal of the current investigation is to optimize conditions for isolation and cultivation of extra-embryonic cells, and characterization of their properties including epithelial mesenchymal transition.

Human term placentas were obtained immediately after cesarean section delivery according to a protocol approved by the Institutional Review Board of the University of Texas Medical Branch at Galveston. Umbilical cord blood and amniotic fluid were obtained from women after normal delivery with written informed consent according to the protocol approved by the Institute of General Pathology and Pathophysiology.

The trophoblast cells and stromal cells of Wharton jelly were isolated from villous tissue of placenta and umbilical cord, respectively. Cells isolated from villous tissue during long time of cultivation (10 passages *in vitro*) remained cytokeratin-7 and E-cadherin positive, and CD9 negative which is consistent with trophoblast-like phenotype. Cells isolated from umbilical cord had fibroblast-like phenotype and expressed vimentin, collagen IV, and smooth muscle actin αSMA. Dexamethasone, Equol, and DY131 affected morphological and phenotypic characteristics of trophopblast cells in 2D cell culture suggesting cell's plasticity and possibility to regulate process of epithelial mesenchymal transition. Epithelial mesenchymal plasticity of cells of umbilical cord was confirmed using 3D cell culture system. The cells located on the surface of formed spheroids expressed epithelial markers E-cadherin and Cytokeratin-7 as well as a marker of undifferentiated cells Nestin. The process of epithelial mesenchymal transition of cell's cultures isolated from extraembrionic tissues allows not only developing *in vitro* model systems to study drug distribution but also can be used as an alternative source of progenitor and stem cells in biotechnology.

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К РЕПРОГРАММИРОВАНИЮ ПРОГЕНИТОРНЫХ И СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Сабурина И.Н., Репин В.С.
ФГБУ НИИ Общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, РФ

Репрограммирование соматических клеток, процесс, представляющий собой переход из дифференцированного состояния в плюрипотентное, делает возможным и перспективным использование этих клеток в биомедицинских исследованиях и регенеративной медицине. Известные методы репрограммирования клеток человека ограничены для терапевтического применения, так как основаны на вирусной доставке репрограмирующих факторов (iPSC), связанной с риском формирования опухоли, а также вирусопосредованной активацией онкогенов или реэкспрессией интегрированных трансгенов. В настоящей работе рассматривается новый подход репрограммирования соматических и прогениторных клеток человека и млекопитающих через 3D культивирование.

В лаборатории разработаны методики выделения и поддержания в 2D культуре линий ММСК из соматических и прогениторных клеткок взрослых и экстраэмбриональных тканей и органов человека и животных – костного мозга, подкожной жировой и мышечной ткани, кожи, букального эпителия, слизистой оболочки носа, эндометрия, пупочного канатика, термальной плаценты и др. Для всех культур были показаны высокая пролиферация клеток в повторных пассажах, способность к формированию колоний, а также сохранение при длительном монослойном культивировании высокого уровня экспрессии кластера поверхностных маркеров CD90+/CD105+/CD29+, в отсутствии экспрессии CD11b-/CD14-/CD34-/CD45- Предложенные системы 3Dкультивирования: «висячей капли» и на агарозных планшетах 3D Petri Dishes позволяют изучать и манипулировать клетками в пределаходного и несколькихсфероидов. В процессе формирования сфероидовпроисходит репрограммирование составляющих его клеток в плюрипотентные, что подтверждено изменением морфологии,высокой экспрессией клеточных маркеров плюрипотентности – nestin, GATA6, PAX6, а также появлением транскрипционных факторов, таких как Nanog, Oct4 и Sox2, специфических для эмбриональных стволовых клеток. од воздействием индукционных факторов полученные плюрипотентные клетки в составе сфероидов можно преддифференцировать в разных направлениях. Добавление в среду культивирования индуктора васкулогенеза – VEGF приводило к появлениюранних и поздних эндотелиальных прогениторных клеток, что подтверждалось появлением в сфероидах клеток, экспрессирующих Flk-1, CD31, vWF и VEGF. Индуцированные эндотелиальные прогениторные клетки из васкуляризованных мезеносфероидов демонстрировали дифференцировку в эндотелиоциты и участвовали в регенерации сосудистой сети при патологических процессах, что было подтверждено в эксперименте на модели острого повреждения печени крыс и модели повреждения кожи животных (трофическая язва крыс, повреждение кожи уха кроликов). Исследование клеточного репрограммирования при формировании сфероидов из различных соматических и прогениторных клеток открывает новые возможности для изучения и понимания механизмов этого процесса, а также совершенно нового способа получения плюрипотентных клеток.

NEW APPROACHES TO REPROGRAMMING OF PROGENITOR AND SOMATIC CELLS

Saburina I.N., RepinV.S.
FSBI Research Institute of General Pathology and Pathophysiology,
Moscow, Russia

Reprogramming of somatic cells, a process which is a transition from differentiated state of cells to pluripotent state, makes it possible and promising to use these cells in biomedical research and regenerative medicine. Known methods of reprogramming human cells for therapeutic use are limited, since they are based on the viral delivery reprogramming factors(iPSC), which are associated with the risk of tumor formation and virus-mediated activation of oncogenes, or re-expression of integrated transgenes. In this paper, a new approach is presented of reprogramming somatic and progenitor cells of man and mammals through 3Dcultivation.

The laboratory methods have been developed to maintain the isolation and culture of the 2D line ITCs from somatic and progenitor cells of adults and extraembryonic tissues and organs of humans and animals – bone marrow, subcutaneous fat and muscle tissue, skin, buccal epithelium of the nasal mucosa, the endometrium, the umbilical cord, thermal placenta, etc. In all crops, high cell proliferation in repeated passages and the ability to form colonies were shown, as well as long-term preservation of monolayer cultivation of high-level expression of a cluster of surface markers (CD90+/CD105+/CD29+), in the absence of expression of CD11b-/CD14-/CD34-/CD45.

The proposed 3D culture system: “hanging drop” and on agarose plate 3D Petri Dishes,allows for examination and manipulation of cells in single and multiple spheroids. In the formation of spheroids, reprogramming of constituent cells into pluripotent cells is involved, which is confirmed by changes in morphology, high expression of cell pluripotency markers – nestin, GATA6, PAX6 - and the emergence of transcription factors such as Nanog, Oct4 and Sox2, specific to embryonic stem cells. Under the influence of inductive factors, the derived pluripotent cells in the spheroids can pre-differentiate in different directions. Adding to the culture medium an inductor of vasculogenesis– VEGF – led to the appearance of early and late endothelial progenitor cells, which was confirmed by the appearance in the spheroids of cells expressing CD133, Flk-1, CD31, vWF and VEGF. Induced endothelial progenitor cells from vascularized mezenospheroids showed differentiation into endothelial cells and were involved in the regeneration of the vasculature in pathological processes, which was confirmed in experiments on models of acute liver injury in rats and skin lesions of animals (trophic ulcer in rat, skin damaged rabbit ears).

The study of cellular reprogramming in forming spheroids of various somatic and progenitor cells opens up new possibilities for the study and understanding of the mechanisms of this process, as well as an entirely new way of obtaining pluripotent cells.

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЭФФЕКТА ПРИ ЭКСПОЗИЦИИ РЕПРОТОКСИЧЕСКИХ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Зайцева Н.В., Землянова М.А.
ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»,
614045, г. Пермь, ул.Монастырская, 82

Цитогенетическое исследование 95 пар (мать – новорожденный), проживающих в условиях внешнесредовой экспозиции химических репроток-сикантов – марганца, никеля, свинца, хрома, формальдегида (группа наблюдения), выполненное на препаратах метафазных хромосом

лимфоцитов крови матери и пуповинной крови новорожденных стандартным методом, свидетельствует о наличии хромосомных изменений у женщин по типу нормального полиморфизма, доля которого составила 30%, что в 5 раз выше показателя у женщин контрольной группы (70 диад, проживающих в отсутствии экспозиции репротоксичных веществ).

Маркерами воздействия при хронической экспозиции химических репроток-сикантов являются повышенная концентрация формальдегида, марганца, никеля, хрома, свинца в крови матерей (в 2,318,2 раза выше референтного уровня) и пуповинной крови новорожденных (в 1,5-13 раз выше референтного уровня).

Маркерами цитогенетического эффекта у женщин фертильного возраста является повышенная частота полиморфизма хромосом, характеризующаяся увеличением спутников и/или спутничных нитей акроцентрических хромосом (13, 14, 15, 21, 22) и гетерохроматиновых участков метацентрических и субметацентрических хромосом (1, 9), увеличение или уменьшение гетерохроматинового участка половой Y хромосомы с диагностической значимостью распространенности на уровне 8-10‰.

Маркерами цитогенетического эффекта у новорожденных являются хромосомные аберрации в виде регулярной простой трисомии 21 хромосомы, транслокационной трисомия с участием 14 и 21 хромосом, регулярная трисомия 18 хромосомы, имеющими зависимость от повышенного уровня в крови формаль-дегида и никеля (с кратностью превышения референтных уровней до 3,5 раз) на фоне цинк-дефицитного состояния. При комплексном воздействии марганца, свинца и никеля формируются отягощенные последствия в виде множественных врожденных пороков развития.

CYTOGENETIC MARKERS OF EFFECTS OF EXPOSURE TO REPROTOXIC CHEMICAL FACTROS

Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A.
FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies",
82 Monastyrskaya St, Perm 614045

A cytogenetic study of 95 mother-newborn pairs, chronically exposed to environmental chemical reprotoxicants – manganese, nickel, lead, chromium, formaldehyde – (the study group), which examined lymphocyte metaphase chromosome preparations from the mother's blood and newborn's cord blood using a common technique, indicates chromosomal changes representing normal polymorphism in female subjects, which accounted for 30%, i.e. 5 times higher than those in the control group females (70 dyads, who were not chronically exposed to reprotoxic substances).

Markers of chronic exposure to chemical reprotoxicants are increased levels of formaldehyde, manganese, nickel and lead in the mother's blood (2.3 to 18.2 times higher than the reference levels) and in the newborn's cord blood (1.5 to 13 times higher than the reference levels).

Markers of cytogenetic effects in the females of fertile age are increased frequency of chromosome polymorphism which is characterized by an increase in satellites and / or in strands of acrocentric chromosome satellites (13, 14, 15, 21, 22) and heterochromatin areas of metacentric and sub-metacentric chromosomes (1, 9), an increase or a decrease of the heterochromatin area of the Y sex chromosome with the frequency of 8-10‰, which is considered to be diagnostically significant.

Markers of cytogenetic effects in the newborns are chromosomal aberrations such as regular simple chromosome 21 trisomy, translocation trisomy involving chromosomes 14 and 21, regular chromosome 18 trisomy, which depend on the levels of formaldehyde and nickel in blood (with an

exceedance of the reference levels by up to 3.5 times) in zinc-deficiency conditions. A combined exposure to manganese, lead and nickel may cause aggravated consequences such as multiple congenital malformations.

POSITIVE OUTCOME IN CLINICAL PHASE IB TESTING OF LIPOSOMAL RECOMBINANT HUMAN SUPEROXIDE DISMUTASE (APN201) TO PREVENT RADIATION-INDUCED DERMATITIS IN FEMALE BREAST CANCER PATIENTS

Harald Schnidar[1], Richard Partl[2], Andreas Neubauer[1], Eva M. Thurner[2], Sabine Krenn-Pilko[2], Bettina Stranz[2], Franz Groiss[1], Manfred Schuster[1], Hellmut Samonigg[3], Karin S. Kapp[2], Hans Loibner[1]

[1]*Apeiron Biologics AG, Campus-Vienna-Biocenter 5, 1030 Vienna, Austria*
[2]*Department of Therapeutic Radiology and Oncology, Medical University Graz, Auenbruggerplatz 32, 8036 Graz, Austria*
[3]*Division of Oncology, Medical University Graz, Auenbruggerplatz 15, 8036 Graz, Austria*

Recent clinical phase Ib testingwith liposomally formulated recombinant human superoxide dismutase (APN201) delivered positive results in all endpoints analyzed. The pilot study was conducted in a double blind, placebo-controlled fashion and included 20female breast cancer patients that received radiation therapy (25-28 Rx-fractions; total dose 50.0Gy – 50.4Gy) after breast-preserving surgery.Traditional radiation treatmentaims on a massive generation of destructiveoxygen radicals such as thesuperoxide anion (O_2^-). This effect can be heavily potentiated by concomitant chemotherapyoften causing severe skin damageand thus even a discontinuation of cancer therapy.Today, despite of high medical need, such collateral damage is mainly subserved symptomatically.

Superoxide Dismutase (SOD), nature's most potent antioxidant enzyme, specifically neutralizes harmful O_2^- radicals. In our study, daily topical application of APN201 (SOD; 1.6mg/mL)could be proven to be safe and well tolerated with no serious or drug related adverse events reported. Furthermore APN201 showed first signs towards efficacy with regard to pain, intensity of erythema and time tooccurrence of grade 2 dermatitis (Placebo, 20.5Rx-fractions/ Verum, 23Rx-fractions). The results however lack statistical significance based on a low incidence rate of grade 2 dermatitis (25%) in our analysis population. Thus, extended efficacy testingis now planned in head and neck cancer (HNC) patients, which are prone to a higher incident rateof grade 2 and more severe radiation damage up to dermatitis grade 3-4.

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА УГРОЗЫ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ У ЖЕНЩИН В УСЛОВИЯХ ЭКСПОЗИЦИИ МЕТИЛИРОВАННЫМИ ФЕНОЛАМИ

Долгих О.В.[1], Харахорина Р.А.[1], Кривцов А.В.[1], Гугович А.М.[1], Дианова Д.Г.[1], Лыхина Т.С.[1], Бубнова О.А.[2]

[1]*ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», г. Пермь, Россия*
[2]*Пермский государственный национальный исследовательский университет, г. Пермь, Россия*

Использование генетических и иммунологических показателей воздействия иммунотропных ксенобиотиков позволяет определить сценарий взаимодействия загрязнителей окружаю-

щей среды как с отдельным человеком, так и с группой риска или популяцией в целом, а также судить о возможности развития техногенно индуцированной репродуктивной патологии.

При углубленном изучении состояния иммунологического здоровья 22 женщин (группа наблюдения), проживающих в г. Перми в зоне воздействия внешнесредового фактора (фенолы), и 24 женщин, проживающих вне зоны воздействия факторной нагрузки (группа контроля), выполнено диагностическое обследование, включающее в себя изучение маркеров клеточной дифференцировки методом проточной цитометрии (CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+CD56+, CD25+, CD95+), содержания IgG специфического к фенолу, показателей пролиферативных реакций (содержание CA 19-9, CA 72-4, CYFRA21-1, CA125) и изучение полиморфизма генов CYP1A1, MMP9, MMP12, CPOX, VEGF, eNO-синтаза, TNFальфа, BRCA1, BRCA2, SULT1A1, ESR1.

По результатам иммунологического исследования выявлены нарушения: клеточного звена иммунитета (нарушение экспрессии лимфоцитарных фенотипов, активационных маркеров CD95+ и CD25+); специфической чувствительности к компонентам факторной нагрузки (повышение содержания антител к фенолу); экспрессии фетальных белков по отношению к группе сравнения CA125, CA72-4, CYFRA21-1; синтеза медиаторов цитокинов IL-8, IFN-γ. Полиморфизм генов детоксикации CYP1A1, CPOX, SULT1A1 характеризует основные различия между двумя группами женщин. Распространенность патологического аллеля у основной группы CYP1A1, CPOX соответственно в 3 и 2,5 раза превышает контроль. Показателями факторной нагрузки, достоверно изменяющими значения показателей иммунитета, являются преимущественно о-крезол и м-крезол.

IMMUNOLOGICAL AND GENETIC DIAGNOSIS OF THREATENED ABORTION IN WOMEN EXPOSED TO METHYLATED PHENOLS

Dolgikh O.V.[1], Kharakhorina R.A.[1], Krivtsov A.V.[1], Gugovich A.M.[1], Dianova D.G.[1], Lykhina T.S.[1], Bubnova O.A.[2]

[1]*Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies, Perm, Russia*

[2]*Perm State University National Research, Perm, Russia*

Using genetic and immunological indicators of impact of immunotropic xenobiotics we can define the scenario of interaction pollutants with both individual and population as a whole and suppose about possibility of development reproductive pathology induced by technogenic factors.

In this study, we investigated the immunology health of 22 women (monitoring team) living in the area of the Perm Region affected by environmental factors (phenols) and 24 women, living in the area of the Perm Region without pollution (control team). The diagnostic research has included the study of cellular immunity markers (CD3+, CD4+, CD8+, CD19+, CD16+CD56+, CD25+, CD95+), concentration of phenol-specific IgG, indicators of proliferative reaction (the concentration of CA 19-9, CA 72-4, CYFRA21-1, CA125), gene polymorphism (CYP1A1, MMP9, MMP12, CPOX, VEGF, eNO-synthase, TNF-α, BRCA1, BRCA2, SULT1A1, ESR1).

Based on the study results we have detected the damages of cellular immunity (the damage of lymphocytic phenotype expression and expression of activation markers CD95+, CD25+), specific sensitivity to components of factor loading (increase the concentration of antibodies to phenol), expression of fetal proteins (CA125, CA72-4, CYFRA21-1), synthesis of cytokine mediators (IL-8, IFN-γ). Polymorphism genes of detoxication (CYP1A1, CPOX, SULT1A1) characterize the basic differences between two women teams. Our study showed the increase in the popularity of pathological

alleles CYP1A1, CPOX in 3 and 2, 5 times in monitoring team against control team. The indicators of factor loading which change the immune rates are mainly o-cresol and m-cresol.

БИОМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ЧЕШСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ, СОЗДАНИЕ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОЙ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА, БИОТЕСТ СРО – БИОМЕДИЦИНСКАЯ КОНТРАКТНАЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

Сурова Ивана
БиоТест ООО,
ПодЗамкем 279, 281 25 Конаровице, ЧешскаяРеспублика

Современная биотехнология и биомедицина тесно связана с работой двух выдающихся Чешских биологов – Яна Евангелисты Пуркине – основателя эмбриологии и Грегора Мендела, которого называют отцом генетики.

Чешское правительство признало потребность в передовых биотехнологиях и биомедицине и включило их в стратегическое планирование; в годах 2006–2012 было при поддержке правительства создано несколько проектов с целью создавать и развивать уникальные возможности для концентрации и конкурентоспособности научных исследований и разработок и интенсивное сотрудничество между академией и промышленностью с четким акцентом на реализацию результатов научных исследований в практику (CEITEC, BIOCEV, BIOMEDREG, FNUSA-MKKK, CDOD). Основные центры биотехнологии, молекулярной биологии и фармацевтических исследований и разработок расположены в Праге и других крупных городах с университетами, такие как Оломоуц, Градец Кралове, Пльзень, Ческе-Будеевице и Брно.

Однимиз примеров такого сотрудничества в рамках проектов, поддерживаемых правительством Чешской республики является создание модели хронической травмы спинного мозга у миниатюрных свиней. Партнерами в этом проекте были Институт генетики и физиологии академии наук и биомедицинская компания, ООО БиоТест.

БиоТест является частной биомедицинской компанией сертифицированной по надлежащей лабораторной практике (GLP), занимающейся доклиническими токсикологическими исследованиями в соответствии с европейскими, американскими, японскими и другими международными правилами для проверки безопасности и в соответствии с EMEA, ICH/VICH, ОЭСР, США FDA, US EPA/OPPTS , ISO, AAALAC. БиоТест охватывает основной спектр доклинических испытаний и исследований, предоставлющих существенную информацию необходимую для поддержки фазы I – III клинических испытаний.

Есть опы тработы с различными типами соединений и в различных терапевтических областях. Существенным преимуществом является большой опыт в работе с приматами.

CZECH BIOMEDICAL RESEARCH, CREATION OF CHRONIC TRAUMATIC SPINAL CORD INJURY MODEL, BIOTEST S.R.O. – THE BIOMEDICAL CRO

Surova Ivana
BioTest s.r.o.,
Pod Zámkem 279, 281 25 Konárovice, Czech Republic

Modern biotech and biomedicine is closely tied to the work of two imminent Czech biologists like Jan Evangelista Purkyně – the founder of embryology and Gregor Mendel referred to as the father of genetics.

Czech government recognized the needs for advanced biotechnology and included them into strategic long-term research orientation;the projects started within 2006 – 2012 and supported by the government create and develop unique opportunities for concentration and competitiveness of the research and development strong academy-industry collaboration with the accent on the results efficiency in praxis (CEITEC, BIOCEV, BIOMEDREG, FNUSA-ICRC, CDOD).The main centers of biotechnology, molecular biology and pharmaceutical research and development are located in Prague and other large cities with universities such as Olomouc, Hradec Králové, Plzeň, ČeskéBudějovice and Brno.

One of the examples of such collaboration within the projects supported by Czech government is creation of chronic traumatic spinal cord injury model in miniature pigs. The partners in this project were IAPG CAS and private biomedical company, BioTests.r.o.

BioTest s.r.o. is private biomedical GLP-certified CRO dealing with comprehensive preclinical toxicological program for compliance safety testing and research supporting of European, US FDA, Japanese, and other international regulatory compliance guidelines (EMEA, ICH/VICH, OECD, US FDA, US EPA/OPPTS, ISO, AAALAC), for products developed from medical devices, biotech, and pharmaceutical industries.

BioTest's R&D activitieswithintheprojects in thecooperationwith Czech and foreignresearchinstitutions and universitiesare essentiallikewisethebroad participation in EU grants projects (the 6th and 7th Frame Program).

BioTests.r.o. capabilities cover core range of non-clinical safety tests and studies providing the substantial information on the drugs to support phase I – III of clinical trials and to keep requirements of REACH for safety assessment of chemicals and chemical preparations.

The team of experts have experience with variety of compounds and therapeutic areas. The substantial advantage is long experience in the work with non-human primates.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К АВТОМАТИЗАЦИИ ВЫРАЩИВАНИЯ КУЛЬТУР АДГЕЗИВНЫХ КЛЕТОК В КРУПНЫХ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ И МЕДИЦИНСКИХ ЦЕНТРАХ

Малыгина Т.О.,
Руководитель отдела Клеточных технологий
ООО «ОПТЭК», 105 005, РФ, Москва, Денисовский пер., 26

Активное развитие исследований в области клеточных технологий и разработки новых лекарственных средств в последние годы привело к экспоненциальному росту потребностей в стволовых клетках[1]. Вместе с тем, сам процесс дифференциации стволовых клеток и последующая наработка необходимых для исследований объемов клеточного материала с сохранением его специфичности оказываются технически сложными и дорогостоящими при применении традиционных методов ручного культивирования. Чтобы вывести производительность крупных исследовательских и медицинских клеточных центров на новый уровень, требуются системы автоматизированного культивирования. Такие системы способны самостоятельно проводить наработку необходимых объемов клеток с сохранением специфичности клеточных линий и с использованием минимальных количеств дорогостоящих реагентов, что позволяет освобождать высококвалифицированных сотрудников от рутинных процессов для решения более сложных исследовательских задач[2-4].

Биореакторы на полых волокнах в настоящее время не предлагают технологий, обеспечивающих полный контроль жизнеспособности и других важных параметров культивируемых клеток в режиме реального времени, а сложности с отработкой технологий использования микроносителей, особенно для целей клеточной терапии, существенно ограничивают использование классических биореакторов для наращивания адгезивных клеточных культур. В отличие от биореакторов, системы, автоматизирующие манипуляции с классическими культуральными флаконами, используя уже отработанные вручную методики, обеспечивают высокую пропускную способность, возможность параллельной работы с несколькими клеточными линиями и автоматизированный анализ параметров выращиваемых клеток в режиме реального времени, что облегчает оптимизацию наработки и/или дифференциации клеток. Эта технология обеспечивает получение высококачественного стандартизованного клеточного материала с минимальными затратами, что важно для современных крупных клеточных исследовательских центров. А с появлением в России законодательной базы использования биомедицинских клеточных технологий в медицинской практике эти системы предоставят широкие возможности для массовой контролируемой наработки клеток для клеточной терапии также и крупным медицинским центрам.

Список литературы.

1. Thomas Dave, Stem Cell Production: Overcoming the Technical and Commercial Challenges, Innovations in Pharmaceutical Technology Issue 43: pp 66-70, 2012.
2. Thomas RJ and Ratcliffe E, Automated adherent human cell culture (mesenchymal stem cells), Methods Mol Biol 806: pp393-406, 2012.
3. Thomas RJ et al, Automated, scalable culture of human embryonic stem cells in feeder-free conditions, Biotechnol Bioeng 102(6): pp1,636-1,644, 2009.
4. McLaren D et al, Automated large-scale culture and medium-throughput chemical screen for modulators of proliferation and viability of human induced pluripotent stem cell-derived neuroepithelial-like stem cells, J Biomol Screen, подписано в печать, 4 October 2012.

MODERN APPROACH TO THE AUTOMATION OF ADHESIVE CELLS CULTIVATION IN LARGE RESEARCH AND MEDICAL CENTERS

Malygina T.O., Head of Cell Technologies SBU
OOO "OPTEC", 105 005, Russia, Moscow, Denisovsky per., 26

Recent burgeoning growth of cell culture research and drug discovery resulted in a dramatic growth of the demands for stem cells[1]. However differentiating stem cells and then expanding them maintaining their differentiated state is technically challenging and prohibitively expensive when accomplished manually using traditional cell culture methods. Up-to-date production demands of large cell culture research and medical centers call for automated cultivation systems that generate sufficient cell yields with the correct cell lineage, while using minimal amounts of expensive reagents, which allows high qualified scientists to get rid of routine and spend more time for more sophisticated research[2-4].

Hollow fibre bioreactors currently fail to offer real-time analysis of many stem cell viability and lineage parameters, while traditional bioreactors have got significant limitations for adherent stem cells cultivation due to the difficulties in optimizing microcarriers technology especially in the case of cell therapy. Alternatively automated T-flask cell culture processing offers a high throughput, parallel workflow using well-known and manually optimized procedures, where stem cells can be analyzed in real-time and optimally processed to facilitate cells expansion and/or differentiation. This cost-effective technique provides high quality standardized batches of cells, which is vital for a modern cell culture center. And as soon as legislative framework of using biomedical cell technologies in medical practice in Russia is completed these systems will readily provide large medical centers wide opportunities for clinical applications as well.

Список литературы.

1. Thomas Dave, Stem Cell Production: Overcoming the Technical and Commercial Challenges, Innovations in Pharmaceutical Technology Issue 43: pp 66-70, 2012.
2. Thomas RJ and Ratcliffe E, Automated adherent human cell culture (mesenchymal stem cells), Methods Mol Biol 806: pp393-406, 2012.
3. Thomas RJ et al, Automated, scalable culture of human embryonic stem cells in feeder-free conditions, Biotechnol Bioeng 102(6): pp1,636-1,644, 2009.
4. McLaren D et al, Automated large-scale culture and medium-throughput chemical screen for modulators of proliferation and viability of human induced pluripotent stem cell-derived neuroepithelial-like stem cells, J Biomol Screen, подписано в печать, 4 October 2012.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ПОИСК АССОЦИАЦИИ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ПОВТОРОВ В ПРОМОТОРНОЙ ЧАСТИ ГЕНА ХОЛЕЦИСТИНКИНИНА И МИНИСАТЕЛЛИТНОГО ПОВТОРА В ПРОМОТОРНОЙ ЧАСТИ ГЕНА МОНОАМИНООКСИДАЗЫ А С РАЗВИТИЕМ ПАНИЧЕСКОГО РАССТРОЙСТВА У ЧЕЛОВЕКА

Афончикова Е.В., Климов Е.А.
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12, Биологический факультет

Паническое расстройство (ПР) – заболевание, характеризующееся спонтанным возникновением панических атак (ПА) от нескольких раз в год, до нескольких раз в день и страха ожидания их возникновения (Daniels C.Y., 2010). Холецистинкинин (ССК) играет важную роль в патогенезе ПР (Ashmarin et al., 2004). Koszycki et al. (1998) установил, что внутривенное введение ССК-4 здоровым людям, вызывало ту же симптоматику, которая возникает во время приступа у людей, подверженных ПА. Hattori et al. (2001) обнаружили микросателлитные повторы (STR) в гене *ССК*. Возможные аллельные варианты, были условно разделены на три группы (L- длинные, M- средние, S- короткие). Ген, кодирующий фермент моноаминоксидазу А (*МАОА*), предположительно вовлечен в процесс развития ПР. Обнаруженный в промоторной части *МАОА* минисателлитный повтор (VNTR), может быть представлен 3, 3,5, 4 и 5 копиями (Sabol et al., 1998). Считается, что длинные аллели более функционально активны, чем короткий аллель (S), и как следствие повышенная активность гена *МАОА* связана с развитием ПР человека (Schulze et al., 2000), что не согласуется с данными полученными ранее (Deckert et al., 1999). Целью данной работы было оценить вклад в развитие ПР аллелей STR гена *ССК* и VNTR гена *МАОА*. В работе использованы образцы крови пациентов с диагнозом ПР, предоставленные лабораторией клинической неврологии ММА им. И.М. Сеченова (n=74) и контрольной выборке необследованных жителей Москвы и Московской области (n=155). В результате анализа была выявлена комбинация аллелей: STR гена *ССК* (M/M) и VNTR гена *МАОА* (S/M) чаще встречавшаяся в выборке больных ПР по сравнению с контрольной выборкой. Это может объясняться наличием эпистатического взаимодействия между рассматриваемыми генами (*МАОА*, *ССК*), однако для проверки этого утверждение требуется увеличение выборки.

ASSOCIATION OF THE MAOA PROMOTER UVNTR AND CCK PROMOTER STR POLYMORPHISM WITH PANIC DISORDER

E. Afonchikova, E.Klimov
Lomonosov Moscow State University,GSP-1, Leninskie Gory,
Moscow, 119991, Russian Federation, Biological Faculty

Introduction: Panic disorder (PD) is a severe and chronic psychiatric disorder with genetic components underlying in its etiology.

The cholecystokinin (CCK) is thought to play a role in the pathogenesis of panic disorder (Ashmarin et al., 2004). Koszycki et al. (1998) investigated administration of CCK-4 healthy people reliably provokes panic attacks. Hattori et al. (2001) identified a polymorphic compound short tandem repeat (STR) in the 5'-regulatory region of the CCK gene, and showed that when the STRs were classified into three groups (L-long, M-medium, S-short) based on length and linkage with the medium class allele was significantly associated with panic disorder.

The monoamine oxidase A (MAOA) gene has been reported to be associated with different psychiatric disorder. A functional variable number of tandem repeats (VNTR) polymorphism of the promoter region of the MAOA gene has been described and many studies have investigated the association of this polymorphism with human behaviors, as well as with PD. A study found the functionally-more-active, longer alleles (3.5, 4, and 5) significantly associated with PD.

In the present study, we genotyped for this STR CCK and VNTR MAOA polymorphisms.

Method: A sample of 74 patients represents people living in Moscow and the Moscow Region with PD was investigated in this study. The control group consisted of 155 unrelated anonymous blood donors living in Moscow and the Moscow Region.

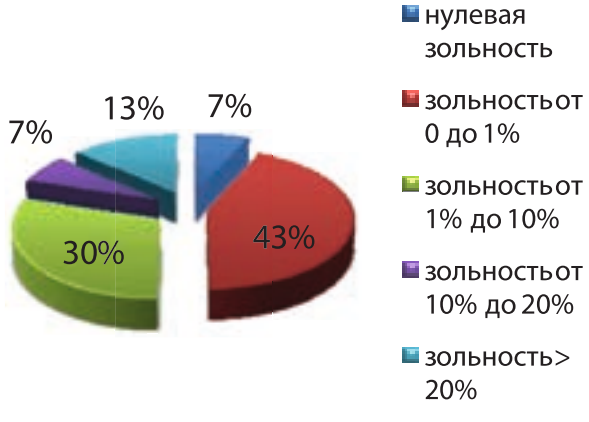
Results: The analysis identified the combination of alleles: STR in CCK gene (M/M) and VNTR in MAOA gene (S/M) is more common in patients with PD compared to the controls.

Conclusion: This may be due to the presence of epistatic interactions between MAOA and CCK genes.

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЛИПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ

Азатян К.А.Алексеев А.В.Зубарева Г.М.Халяпина Я.М.
ГБОУ ВПО Тверская ГМА Минздрава России,
170100, г. Тверь, ул. Советская, д. 4

Согласно проведенным исследованиям, в настоящее время по частоте возникновения желчнокаменная болезнь выходит на первое место среди заболеваний пищеварительной системы. В основе камнеобразования лежит нарушение равновесия между стабилизаторами желчи (желчные кислоты и лецитин) и количеством растворенных в ней веществ (карбонат кальция, билирубин и холестерин). Исследование неорганической составляющей желчных камней дало следующие результаты, которые представлены на диаграмме.



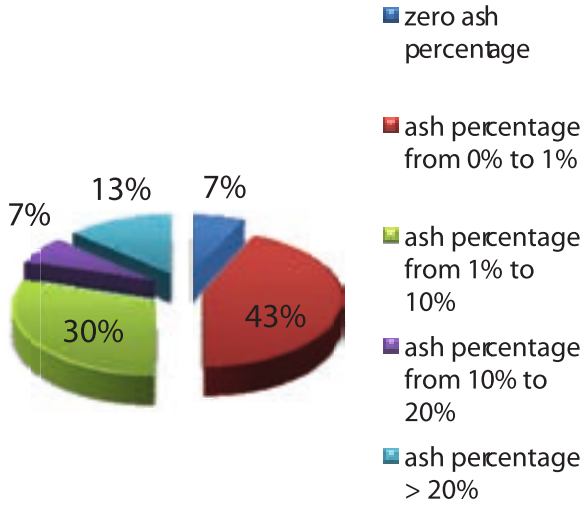
Неорганическая часть желчных камней в наибольшем количестве содержит Ca^{2+} и Mg^{2+}, в меньшем количестве содержится Sr^{2+} и железо. Органическая составляющая желчных камней была нами изучена с помощью методов ИК-спектрометрии. Выведение кальция и его соединений, магния и других металлов из состава камней приводит к их распаду. В качестве связывающего минеральную часть вещества нами использовалась лимонная кислота. В присутствии кальция лимонная кислота образует с ним устойчивый комплекс – цитрат кальция, который растворим в воде, и легко усваивается организмом человека. Быстрый метаболизм и поглощение тканями лимонной кислоты, сильнокислая pH среды раствора, большая потребность в ней других тканей – делают невозможным доставку лимонной кислоты до печени и желчного пузыря. Предлагаемая нами, липосомальная форма лимонной кислоты позволяет доставить ее прак-

тически в неизмененном виде до клеток печени и до желчи. Более того, лецитин, из которого состоят липосомы – переводит кристаллический холестерин желчных камней в растворенное состояние. Таким образо, разработка липосомальной формы лимонной кислоты – как растворителя желчных камней смешанного типа, откроет в будущем широкие возможности для консервативного лечения ЖКБ.

POSSIBLE USE OF LIPOSOMAL DRUG FOR THE TREATMENT OF GALLSTONE DISEASE

Azatyan K.A., Alekseev A.V., Zubareva G.M.. Khalyapina Ya.M.
Tver State Medical Academy.
Russia, 170100, Tver, Sovetskaya street, 4

According to the conducted research, nowadays the incidence of gallstone disease takes the first lace among the disease of digestive system. In the basis of stone formation there is the balance disorder among stabilizators of bile (bile acids and lecithin) and the quantity of substances dissolved in it (calcium carbonate, bilirubin and cholesterol). The research of inorganic constituent of gallstones gave the following results which are presented in the diagram.



Inorganic part of gallstones contains Ca^{2+} and Mg^{2+} in the most quantity, and Sr^{2+} and iron in the least quantity.

Organic constituent of gallstones was studied by us with the help of ir-spectrometry (infrared spectrometry) methods. Excretions of calcium and its compounds, magnesium and other metals out of the stone composition leads them to breakage. As part of the mineral-binding agents, we used citric acid.

In the presence of calcium citric acid forms a steady complex with it – calcium citrate which is soluble in water and is easily digested by the man's organism. Rapid metabolism and absorption of citric acid by tissues, highly acidic pH of fluid environment, high requirement of other tissues in it – make the delivery of citric acid to the liver and gall-bladder impossible.

Liposomal form of citric acid offered by them allows to deliver citric acid to the liver cells in practically unchanged form and in accordance to the bile. More than that, lecithin, of which liposome's consist, slag's off crystalline cholesterol of gallstones into the dissolved condition. According to the abovementioned, the development of liposomal form of citric acid as the solvent of gallstones of mixing type will open manifold possibilities for conservative treatment of gallstone disease in future.

ОСОБЕННОСТИ ПРОЛИФЕРАЦИИ КАРЦИНОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ПО ЭКСПРЕССИИ HER-2/NEU И С АМПЛИФИКАЦИЕЙ ГЕНА HER-2

Бриллиант А.А., Сазонов С.В., Засадкевич Ю.М.
ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий,
620036, г. Екатеринбург, ул. Соболева 25,
тел.(343)3769828 e-mail: alex_brilliant@mail.ru

Состояние пролиферативных процессов в ткани опухоли является прогностическим фактором, влияющим на исход заболевания пациентов с карциномой молочной железы. В ходе работы были изучены 362 случая инфильтративных карцином молочной железы. Целью исследования было изучение состояния пролиферативных процессов в клетках карциномы молочной железы в зависимости от экспрессии белка Her-2/neu и амплификации гена HER-2. Определение экспрессии Her-2/neu на клетках карцином молочной железы проводили иммуногистохимическим методом в автостейнере "Dako" с помощью поликлональных антител Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erb-2 Oncoprotein (DAKO, Дания). Оценка уровня мембранной экспрессии Her-2/neu в опухолевых клетках производилась по шкале от 0 до 3+. Случаи оцененные как 3+ расценивают как позитивные по наличию рецепторов Her-2/neu. Все случаи оцененные как 2+ для выявления наличия амплификации гена Her-2 исследовались методом FISH («HER2 FISH pharmDx Kit», Dako) с использованием микроскопа "ZeissYmagerM" (Германия). Уровень пролиферативной активности оценивали по ядерному индексу пролиферации клеток опухоли – Ki-67(антитела Mouse Anti – Human KI-67 Antigen фирмы DAKO, Дания). По процентному отношению числа окрашенных ядер клеток карциномы к неокрашенным можно судить о пролиферативной активности исследуемой опухоли. В результате исследования было выявлено, что средний индекс пролиферативной активности карцином, оцененных как 3+ по уровню экспрессии Her-2/neu, составляет 26,00±0,08%. Индекс пролиферативной активности карцином, оцененных как 2+ по уровню экспрессии рецепторов Her-2/neu, равен 23,0±0,9%. Среднее значение индекса пролиферации карцином 2+ с аплификацией гена HER-2 составляет 24,0±0,2%, неамплифицированных случаев – 23,0±0,2%. Наличие амплификации гена не влияет на изменение пролиферативной активности карциномы молочной железы.

PECULIARITIES OF PROLIFERATION OF BREAST CANCER CARCINOMAS POSITIVE TO HER-2/NEU EXPRESSION WITH HER-2 GENE AMPLIFICATION

Brilliant A.A., Sazonov S.V., Zasadkevich Y.M.
GBUZSO Institute of medical cell technologies,
620036, Soboleva str. 25, Ekaterinburg,
tel.+7(343)3769828 e-mail: alex_brilliant@mail.ru

The condition of proliferative processes in tumor tissue is a prognostic factor, which influences on the disease outcome of patients with breast carcinoma. In the research 362 cases of infiltrative breast carcinoma were studied. The aim of the study was to examine the condition of the proliferative processes on breast carcinoma cells depending on protein Her-2/neu expression and Her-2 gene amplification. Her-2/neu expression on breast carcinoma cells was determined by immunohistochemical method in autostainer "Dako" with polyclonal antibodies Polyclonal Rabbit Anti-Human c-erb-2 Oncoprotein (DAKO, Denmark). A level of Her-2/neu membrane expression on tumor cells was evaluated on the scale from 0 to 3+. The cases evaluated as 3+ were estimated as positive for the presence of Her-2/neu receptors. All the cases evaluated as 2+ were studied for detection of Her-2 gene ampli-

fication by FISH method ("HER2 FISH pharmDx Kit", Dako) using the microscope "ZeissYmagerM" (Germany). A proliferative activity level was estimated by tumor cells proliferative index – Ki67 (with antibody Mouse Anti-Human KI-67 Antigen, "Dako", Denmark). Proliferative activity of the explored tumor can be evaluated by percentage ratio of stained nuclei of carcinoma cells to unstained. It was identified that the average carcinoma proliferative activity index evaluated as 3+ for Her-2/neu expression was 26.00±0.08%, the average carcinoma proliferative activity index evaluated as 2+ for Her-2/neu expression was 23.0±0.9%. The average carcinoma proliferative activity index with Her-2 gene amplification was 24.0±0.2%, without Her-2 gene amplification – 23.0±0.2%. Presence of the gene amplification does not influence on alteration of proliferative activity of breast carcinoma.

ПРЕОДОЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ТОЛСТОЙ КИШКИ К TRAIL С ПОМОЩЬЮ МУТАНТНОГО ВАРИАНТА ЦИТОКИНА СЕЛЕКТИВНОГО К РЕЦЕПТОРУ СМЕРТИ DR5

Бычков М.Л., Гаспарян М.Э., Долгих Д.А.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук(ИБХ РАН)
117997, Москва, Россия

TRAIL индуцирует апоптоз в опухолевых клетках через рецепторы смерти DR4 и DR5, и не проявляет токсичность по отношению к нормальным клеткам. Однако, более половины линий опухолевых клеток нечувствительны к TRAIL, отчасти из-за взаимодействия цитокина с рецепторами-ловушками (DcR1, DcR2 и OPG). Мы получили мутантный вариант цитокина TRAIL DR5-B, который связывается с рецептором DR5 так же эффективно как и с диким типом, однако практически не взаимодействует с рецепторами-ловушками и с рецептором смерти DR4. На клетках карцином толстой кишки HCT116 препарат DR5-B в 4 раза эффективнее вызывает апоптоз по сравнению с TRAIL дикого типа. Методом проточной цитометрии была показана, что эти клетки экспрессируют все 4 мембраносвязанные рецепторы DR5, DR4, DcR1 и DcR2 на поверхности клеток в соотношении 41, 32, 20 и 6%, соответственно. При совместном воздействии с бортезомибом (10 нМ) и таксолом (1 нМ) эффективные дозы ED_{50} препарата DR5-B уменьшились 5 – 10 раз, тогда как у TRAIL дикого типа этот параметр не изменился. В этих условиях максимальная гибель клеток составила 95% и 40% при концентрациях 50 нг/мл DR5-B и TRAIL дикого типа, соответственно.

Препарат DR5-B в концентрации 100 нг/мл индуцировал апоптоз 45% клеток колоректальной аденокарциномы HT29, а аналогичная концентрация TRAIL дикого типа вызывала гибель всего 7% клеток. Химиопрепараты бортезомиб, таксол, доксорубицин и цисплатин совместно с препаратами DR5-B и TRAIL дикого типа вызывали апоптоз у 90% и 37% клеток, соответственно.

Цитотоксичность белков DR5-B сравнивали с TRAIL дикого типа на клетках HFF (фибробласты крайней плоти) человека. Оба препараты не вызывали гибель этих клеток при концентрациях меньше в 20 мкг/мл, что 2000 раз превышает эффективные дозы препаратов. Таким образом, DR5-B может служить эффективним средством для терапии опухолей толстой кишки устойчивые к TRAIL дикого типа.

OVERCOMING THE RESISTANCE OF COLON TUMOR CELLS TO TRAIL USING A DR5 DEATH RECEPTOR SELECTIVE MUTANT VARIANT OF CYTOKINE

M.L. Bychkov, M.E. Gasparian, D.A. Dolgikh
Federal State Institution of Science Institute of Bioorganic Chemistry. Academics MM Shemyakin Ovchinnikov, Russian Academy of Sciences (Institute of Bioorganic Chemistry), 117997, Moscow, Russia

TRAIL induces apoptosis in tumor cells through death receptors DR4 and DR5 and shows no toxicity to normal cells. However, more than half of the tumor cell lines are insensitive to TRAIL, in part because of the interaction of a cytokine with decoy receptors (DcR1, DcR2 and OPG). We obtained a mutant version of the cytokine DR5-B which binds to the receptor DR5 as efficiently as wild-type TRAIL, but practically it does not interact with the decoy receptors and death receptor DR4. In colon carcinoma cells HCT116 DR5-B induced apoptosis 4-fold more efficient than wild-type TRAIL. Flow cytometry analysis demonstrated that these cells express all membrane-bound receptors DR5, DR4, DcR1 and DcR2 in the ratio of 41, 32, 20 and 6%, respectively. Combined treatment of the HCT116 cells with bortezomib (10 nM) and taxol (1 nM) decreased effective doses (ED_{50}) of DR5-B 5 -10 fold, whereas this parameter was not changed for wild-type TRAIL. In these conditions, the maximum cell death was 95% and 40% for DR5-B and wild type TRAIL, respectively at concentrations of 50 ng/ml of ligand.

DR5-B preparation at a concentration of 100 ng /ml induced apoptosis 45% of colorectal adenocarcinoma HT29 cells, while similar concentration of wild-type TRAIL caused only 7% death. Chemotherapy agents, such as bortezomib, taxol, doxorubicin, and cisplatin in combination with preparations DR5-B and wild-type TRAIL induced 90% and 37% apoptosis of HT29 cells, respectively.

Cytotoxicity of DR5-B was compared with wild-type TRAIL on the HFF (human foreskin fibroblasts) cells. Both preparations did not cause cell death at concentrations less than 20 µg/ml, which is 2000 times higher than the effective doses. Thus, DR5 selective mutant variant of TRAIL DR5-B can be used as a powerful tool in therapy of wild type TRAIL resistant colon cancers.

АНТИБИОТИК БАТУМИН – СЕЛЕКТИВНЫЙ ИНГИБИТОР БАКТЕРИЙ РОДА *STAPHYLOCOCCUS*

Чуркина Л.Н.[1], Киприанова Е.А.[1], Ванечуте М.[2], Авдеева Л.В.[1], Перунова Н.Б.[3]
[1]*Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины, ул. Академика Заболотного, 154, Киев 03680, Украина;*
[2]*Лаборатория бактериологических исследований, Гентский университет, Gent, Blok A, De Pintelaan 185, Belgium;*
[3]*Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, ул. Пионерская, 11, Оренбург 460000, Российская Федерация*

Батумин, выделенный из *Pseudomonas batumici* в ИМВ НАН Украины и широко исследованный на протяжении последних десятилетий, высокоактивен в отношении представителей рода *Staphylococcus,* включая метициллинрезистентные штаммы *S. aureus*.

Род *Staphylococcus* состоит из 11 РНК-комплексов, объединяющих более 40 видов. Нами проанализирована чувствительность к батумину 30 видов стафилококков, представленных как типовыми штаммами, так и клиническими изолятами. Большинство из них были чувствительны к антибиотику в концентрации 0,25 мкг/мл. Для видов комплекса *S.epidermidis* (*S.caprae, S.capitis, S.epidermidis*) МПК составляла 0,0625-0,125 мкг/мл. Высокочувствительным к батумину оказался и *Macrococcus caseolyticus* – вид, недавно образовавший новый род семейства

Staphylococcaceae. Батумин является селективным и высоко-активным ингибитором бактерий, входящих в состав названного семейства, но не действует на представителей семейства *Bacillaceae*, эволюционно близкого стафилококкам.

Батумин действует и на атипичные трудно идентифицируемые формы стафилококков, так называемые small colony variants, выделяемые при кистозном фиброзе легких и остеомиелитах. При использовании батуминсодержащих дисков (5 µg на диск) зоны задержки роста SCV_s *S. aureus, S.haemolyticus и S. epidermidis* составляют не менее 25 мм, что облегчает и упрощает их диагностику.

Интересным направлением является изучение влияния батумина на образование биопленки стафилококками. При внесении в среду ½ МПК антибиотика этот процесс существенно снижался у 80% штаммов назальных стафилококков с исходно высокой способностью к биопленкообразованию.

ANTIBIOTIC BATUMIN – THE SELECTIVE INHIBITOR OF BACTERIA BELONGING TO THE GENUS *STAPHYLOCOCCUS*

Churkina L.N.[1], Vaneechoutte M.[2], Kiprianova E.A.[1], Avdeeva L.V.[1], Perunova N.B.[3]
[1]*Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, Zabolotnogo st. 154, Kyiv 03680, Ukraine;*
[2]*Laboratory Bacteriology Research, University of Gent, 3 Blok A, De Pintelaan 185, 9000 Belgium,*
[3]*Institute of Cellular and Intracellular Symbiosis, Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Pionerskaya st. 11, Orenbourg 460000, Russian Federation*

Batumin isolated from Pseudomonas batumici in the Institute of Microbiology and Virology of the Ukrainian Academy of Sciences and widely studied during the last decades is highly active against bacteria of the genus Staphylococcus, including the methicillin-resistant strains of S. aureus.

The genus *Staphylococcus* consists of 11 RNA-complexes and comprises more than 40 species. We have analysed the sensitivity to batumin of 30 *Staphylococcus* species, which were represented by both the type strains and clinical isolates. Most of them were sensitive to 0.25 µg/ml of antibiotic. MIC ranged between 0.0625 and 0.125 µg/ml for the species of the *S. epidermidis* complex *(S. caprae, S. capitis, S. epidermidis*). *Macrococcus caseolyticus* – the species which recently formed a new genus within the family *Staphylococcaceae* also proved to be highly sensitive to batumin. Batumin is a selective and highly active inhibitor of *Staphylococcaceae* but it is not active against the representatives of the *Bacillaceae*, which is evolutionary the family closest to the *Staphylococcaceaee*.

Batumin is also effective against atypic difficult-to-identify staphylococcal forms, the so-called small colony variants (SCV_s) isolated from cystic fibrosis and osteomyelitis patients. Use of a diagnostic preparation (consisting of 5 µg batumin paper disks) gives growth inhibition zones around SCV_s variants of *S. aureus, S. haemolyticus* and

*S. epidermidis*of at least 25 mm, which simplifies and reduces cost of their identification.

The influence of batumin on biofilm formation by staphylococci is also an interesting line of investigation. Inoculation of ½ of the batumin MIC to the culture media with staphylococci considerably reduced biofilm formation in 80% of nasal strains which had a high initial level of biofilm formation.

КУРИНЫЕ ЯЙЦА КАК ИСТОЧНИК СПЕЦИФИЧНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Егорова Е.А.[1,2], **Ботин Д.Э.**[1], **Копылов А.Т.**[1], **Колесанова Е.Ф.**[1]
[1]*Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича Российской академии медицинских наук, Москва, 119121 ул. Погодинская, 10;*
[2]*ООО «ПостгенТех», Москва, 119992, ул. Погодинская, 10, корп.1.*

Были исследованы несколько методов получения иммуноглобулинов Y (IgY) из желтков куриных яиц. Наиболее чистый препарат IgY (по данным диск-электрофореза и масс-спектрального анализа) был получен при предварительном удалении липопротеидов желтка осаждением декстран-сульфатом.

Показано, что синтетические пептидные конструкции, составленные из фрагментов белка E2 вируса гепатита С (ВГС), ранее проявлявших иммуногенность у мышей и крыс, вызывали образование специфичных антител и у кур. Секретированные в желток IgY специфично взаимодействовали не только с пептидами, использованными для иммунизации, но и с оболочечным белком E2 и с гетеродимером E1E2 ВГС. Иммунный ответ, выражаемый титром антител против белка E2 в расчёте на 1 мг препарата IgY, достигал пика на начало 3-й недели после окончания иммунизации и был постоянным в течение одной недели, после чего снижался. От каждой курицы в ходе одного цикла иммунизации было получено в среднем 1000 мг очищенного препарата специфичных IgY. Эти специфичные IgY могут использоваться для разработки иммунотест-систем для выявления оболочечных белков ВГС и вирусных частиц, получения аффинных сорбентов для выделения антигенов, а также при исследованиях с использованием культур клеток, вирусных частиц и в гистохимических анализов, где важным преимуществом IgY является отсутствие их связывания с белками системы комплемента млекопитающих.

HEN EGGS AS A SOURCE OF SPECIFIC ANTIBODIES FOR BIOMEDICAL RESEARCH

E.A. Egorova[1,2], **D.E. Botin**[1], **A.T. Kopylov**[1], **E.F. Kolesanova**[1].
[1]*Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of Russian Academy of Medical Sciences; 10, Pogodinskaya str., 119121 Moscow, Russia;*
[2]*"PostgenTech" Ltd., 10, bld.1, Pogodinskaya str., 119992 Moscow, Russia*

Several methods of immunoglobulin (IgY) preparation from hen egg yolk were tested. The purest IgY preparation (according to disc electrophoresis and mass-spectral analysis data) was obtained with the preliminary removal of yolk lipoproteins by dextran sulfate precipitation

It was shown that synhtetic peptide constructs composed of hepatitis C virus protein E2 fragments that previously demonstrated immunogenicity in mice and rats, raised specific antibodies in hens as well. IgY, secreted into yolk, specifically interacted not only with the peptides used for immunization, but also with hepatitis C virus envelope protein E2 and E1E2 heterodimer. Immune response, expressed as titer of anti-protein E2 antibodies per 1 mg IgY, reached its maximum at the beginning of the third week after the immunization, was stable for one week, and then slowly declined. On the average, about 1000 mg of purified specific IgY preparation was received from one hen in a single immunization cycle. These specific IgYs can be used for the development of immunoassay systems for the detection of HCV envelope proteins and viral particles, for obtaining affinity sorbents for antigen separation, as well as for studies using cell cultures, viral particles and in histochemical

analysis, where the inability of IgY to bind mammalian complement system proteins is an important advantage.

РИСКИ ПРИ ОБРАЩЕНИИ ФИТОПРЕПАРАТОВ

Габидова А.Э.,
Центр внедрения инновационных медицинских и фармацевтических технологий ГОУ ВПО Российского научно-исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова г.Москва, ул. Островитянова, 1.

Развитие цивилизаций происходит при постоянном использовании растений. Они составляют значительную и принципиальную часть пищи, используются как специи, приправы, деликатесы и в напитках. Весьма распространено и использование технических культур и изделий из них (хлопок, конопля, бумага, пробка, строительная или отопительная древесина). Другую особую группу образуют растения, которые обладают фармакологическими свойствами. В биосфере циркулирует огромное количество микроорганизмов и синтетических химических веществ. Микробная контаминация растений зависит от окружающей среды (почва, воздух, вода). Лекарственное растительное сырье (ЛРС), составляющее основу фитопрепаратов, по своему происхождению наиболее контаминировано микрофлорой и является наиболее вероятным переносчиком спор микроорганизмов. На растениях и внутри них может быть найдено широкое разнообразие патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, а также патогенные соединения, т.е. должна формироваться стратегия действий по устранению или снижению риска.Микробный риск, возникающий в процессе переработки лекарственных растений, может изменяться на различных стадиях производства,но не возможность стерилизовать или обрабатывать ЛР не сопровождается снижением количества микроорганизмов в готовой продукции. Анализ высушенного растительного сырья показывает, что микроорганизмы и особенно их споровые формы могут сохраняться в течение длительного периода.

Спорообразующие микроорганизмы, способны начать активно развиваться в лекарственных средствах при их хранении, или в организме пациента, причем этот процесс может протекать как в аэробных, так и в анаэробных условиях. В ряде исследований показано, что анаэробные микроорганизмы широко распространены в окружающей среде, следовательно, опасность попадания их в лекарственные средства довольно высока. Спорообразующие анаэробы отличаются высокой степенью выживаемости. Чрезвычайную актуальность представляет более глубокое изучение анаэробной микробиоты лекарственных средств в связи с тем, что: они представляют большую опасность здоровью человека из-за наличия у них токсигенных и аллергенных свойств, значительная жизнеспособность спорообразующих анаэробных микроорганизмов; широкое распространение в окружающей среде отдельных представителей анаэробных микроорганизмов и опасность попадания их в лекарственные средства. Анаэробные микроорганизмы в лекарственных средствах (ЛС) в настоящее время не идентифицируются. Только в Европейской и Британской фармакопеях представлен метод количественного определения Clostridium perfringens, как одного из наиболее патогенных и распространенных анаэробов-контаминантов.

Clostridium perfringens широко распространена во внешней среде (вода, почва, человек, кишечник человека), где она преимущественно является сапротрофом, но может вызывать различные заболевания. В почве, пыли помещений Clostridium perfringens встречается почти в 100% исследованных проб, в воздухе предприятий обнаруживается в 10-12% случаев, на оборудовании – почти в 30% случаев, на санитарной одежде работников – 11-19% случаев. Clostridium

perfringens условно-патогенная, энтеротоксигенная бактерия, является наиболее частой причиной возникновения токсикоинфекций при употреблении пищевых продуктов. . В ЛРС были выявлены повышенные уровни содержания грибов и бактерий рода Bacillus, *E.coli* и присутствие Clostridium perfringens и ее спор.

В настоящее время признается важность изучения микробных патогенов, развивающихся в растительных культурах (овощах, фруктах, злаках). ЛРС находится в том же ареале, что и сельскохозяйственные культуры. Микроорганизмы окружающей среды сорбируются на листьях, плодах, корнях За период с 70-х гг. по настоящее время зафиксировано большое количество вспышек пищевых токсикоинфекций, причиной которых являлась Clostridium perfringens.

Известно, что ответ людей на возбудителей пищевых токсикоинфекций высоко вариабелен, и зависит от интеграции эффектов организма (возраст, состояние иммунитета, питания и т.д.), патогена (вирулентность, количества проглоченных клеток). Если у взрослых людей условно-патогенные микроорганизмы (золотистый стафилококк, протей, кишечная палочка и др.) вызывают заболевания только при массивной обсемененности продуктов, то у детей значительно меньшая доза этих возбудителей может привести к возникновению заболевания. Также восприимчивыми (заболевают, при потреблении низких доз) являются пожилые, беременные, лица со сниженным иммунитетом.

Поэтому следует учитывать токсикологические факторы и более высокие уровни риска и классы опасности. Учитывая, токсикологические факторы и более высокие уровни риска и классы опасности, для лекарственных средств необходим более жесткий микробиологический контроль, так как микробиологический риск относится к непредвиденным внешним рискам (природно-экологический риск).

THE RISKS OF TREATMENT HERBAL REMEDIES

Gabidova A.E.
State Budget Educational Institution of Higher Professional Education
Russian National research Medical University n.a. N.I.Pyrogova
Ministry of Health Russian Federation, Moscow, st.Ostrovitaynova, 1.
Center of innovative medical and pharmaceutical technology,
Head of the organization of pre-clinical and clinical studies, PhD.
E-mail: pharminnovate@gmail.com; tel.: +7(925)3765773.

The development of civilization is in need of plants. They make up a significant and fundamental part of the food, used as spices, seasonings, gourmet food (due to its taste – the nutritional value is in the second place), or elements of some drink. The use of industrial crops and their products (e.g., cotton, hemp, paper, cork, wood construction or heating) is quite common. Another special group consists of plants that have medicinal properties.

At the time when medicine began to develop as a scientific discipline, botany remained one of its main industries for a long time. Later, there were attempts to isolate active ingredients from plants and to use them as medical products.

Among the problems facing modern society, the state of the environment is one of the first places. A lot of alien organisms and synthetic chemicals circulate in the biosphere.

Medicinal plant raw material (MPRM), which constitutes the basis of herbal remedies, is most contaminated by microflora by its nature and is the most possible carrier of spores of microorganisms. Microbial contamination of plants depends on the environment (soil, air, water). On the surface of plants and inside them, there is a wide variety of bacterial microorganisms, fungi, and viruses, as well

as traces of rodents and insects. Preliminary studies have shown that pathogenic and opportunistic microorganisms as well as pathogenic compounds can be found among the listed microorganisms. Consequently, herbal raw material is a source of micro-organisms which depends on the following factors. As a results, a strategy should be formulated in order to eliminate or reduce the risk.

Microbial risk, arising during the processing of medicinal plants, may vary at different stages of production. Analysis of the dried plant material shows that microorganisms and especially their spore forms can persist for a long period.

Spore-forming microorganisms are able to begin developing in drugs during storage or in a patient. This is a process that can occur in both aerobic and anaerobic conditions. Several studies have shown that anaerobic microorganisms are widely distributed in the environment, hence, the danger of getting them into drugs is quite high. Spore-forming anaerobic bacteria have a high degree of survival. Extremely relevant is a detailed study of anaerobic microbiota of drugs due to the fact that they are very dangerous to human health because of their toxigenic and allergenic properties, large spore viability of anaerobic microorganisms, widely distributed in the environment of individual representatives of anaerobic microorganisms and danger of falling into drugs.

Currently anaerobic microorganisms are not identified in pharmaceuticals (drugs). Only in the European and British pharmacopoeias, the method of quantitative determination of Clostridium perfringens, as one of the most pathogenic and common anaerobes-contaminants is introduced.

Cl. perfringens is widely distributed in the environment (water, soil, people, intestine), where it is mainly saprotroph, but can cause a variety of diseases. In soil and dust premises, C.perfringens is to be found in nearly 100% of samples, in the air of companies – in 10-12% of cases, the equipment – almost 30% of cases, sanitary clothing workers – 11-19% of the cases (5). Cl.perfringens is opportunistic, enterotoxigenic bacterium, the most common cause of toxinfection in the use of food. In the food industry, standards for its content are set and control is required. At the present time, the importance of studying microbial pathogens in plant developing cultures (vegetables, fruits, cereals) is recognized. MPRM have the same habitat as the crops. They grow (soil) and are collected under the same conditions. Microorganisms of environment are adsorbed on leaves, fruits, roots . There are well-known cases of diseases caused by consumption of food contaminated with pathogenic microorganisms. A large number of outbreaks of food poisoning, caused by Cl.perfringens, was recorded during the period from the 70's till the present time.

It is known that the response of people on foodborne pathogens is variable, and depends on the integration of the body features (age, immune status, nutrition, etc.) and the pathogen qualities (virulence, number of ingested cells). Whereas opportunistic pathogens (Staphylococcus aureus, Proteus, E. coli, etc.) cause disease for a grown up person only in case of the massive contamination of products, a much lower dose of these agents can lead to disease of a child. Just as susceptible (ill by ingesting low dose) are elderly and pregnant women and people with reduced immunity. However, even a grown up person may get ill from a low dose. Therefore, one should consider the toxicological factors and higher levels of risk and hazard. Given these characteristics of the medication, a more rigid microbiological control is required, because microbiological risks are related to unforeseen external risks (natural and environmental risks).

МЕТОДИКА ЦИТОМЕТРИЧЕСКОГО ВЫЯВЛЕНИЯ «БОКОВОЙ ПОПУЛЯЦИИ», АССОЦИИРОВАННОЙ С РАКОВЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ, С ПРИМЕНЕНИЕМ СИНЕГО ИЛИ ФИОЛЕТОВОГО ЛАЗЕРОВ И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ АНАЛИЗА КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА КОЛОРЕКТАЛЬНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЧЕЛОВЕКА

Гисина А.М., Сарыглар Р.Ю.
ФГБУ Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, 119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр.8
ООО «НПК СТЕММА», 117574, Москва, Новоясеневский пр-т, д. 6, стр.3

Наиболее распространенный способ выявления «боковой популяции» заключается в окрашивании клеток флуоресцентным красителем Hoechst 33342, диапазон возбуждения которого оптимален для ультрафиолетового лазера (350 нм), недоступного для большинства исследовательских лабораторий.

Целью данной работы стала отработка и сравнение эффективности методов выявления «боковой популяции», на цитометре, оснащенном более доступными синим (488 нм) и фиолетовым лазерами (407 нм), с использованием красителей Hoechst 33342, DyeCycleViolet и Rhodamine 123 с последующим применением наиболее оптимального метода для выявления «боковой популяции» в клетках колоректальной аденокарциномы человека.

Отработку методики осуществляли на клеточной линии С-6 (глиома крысы). При отработке методики было показано, что любой из трех флуоресцентных красителей (Hoechst 33342, DyeCycle Violet и Rhodamine 123) может быть использован для анализа «боковой популяции» на проточном цитометре, оснащенном синим и фиолетовым лазерами. Однако наиболее оптимальным методом является использование красителя DyeCycle Violet ввиду его наименьшей токсичности и наибольшей наглядности получаемых с его использованием графиков. В качестве биоматериала для дальнейшего анализа был использован послеоперационный опухолевый материал из первичного очага от трех пациентов с колоректальной аденокарциномой, не проходивших химиотерапию до операции. В результате анализа биоматериала было выявлено, что численность клеток «боковой популяции», ассоциированной с раковыми стволовыми клетками, в клетках колоректальной аденокарциномы человека составляет 1,0±0,2%, снижаясь при добавлении верапамила до 0,2±0,12%.

CYTOMETRIC METHOD FOR REVEALING THE "SIDE POPULATION" ASSOCIATED WITH CANCER STEM CELLS USING BLUE OR VIOLET LASER, AND ITS APPLICATION TO THE ANALYSIS OF CELL SUBPOPULATIONS IN HUMAN COLORECTAL ADENOCARCINOMA SAMPLES

Gisina AM, Saryglar RY
Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of Russian Academy of Medical Sciences, address: 119121, Moscow, Pogodinskaya street, 10
"STEMMA", LLC, 117574, Novoyasenevsky ave, 6

The most common way to identify the "side population" is staining cells by fluorescent dye Hoechst 33342, the excitation range of which is optimal for UV laser (350 nm) inaccessible for the majority of the research laboratories.

Therefore, the objective of this study was to work out and to compare the efficacy of the methods for identification of "side population" on the cytometer equipped with a more affordable blue and violet lasers using dyes Hoechst 33342, DyeCycle Violet and Rhodamine 123 with subsequent appli-

cation of the most optimal method to identify the «side population» in the cells of human colorectal adenocarcinoma.

Working-out of the method was performed on cell line C-6 (rat glioma). As result of working-out it was shown that any of the three fluorescent dyes (Hoechst 33342, DyeCycle Violet and Rhodamine 123) can be used for the analysis of "side population" on a flow cytometer equipped with blue and violet lasers. However, the most optimal method is to use the dye DyeCycle Violet because of its lower toxicity and the best ostensiveness of dot plots received with its using.

As a biomaterial for further analysis was used postoperative tumor samples from the primary site of the three patients with colorectal adenocarcinoma, not undergone preoperative chemotherapy. In result of the analysis of biological material it was found that the number of "side population" cells associated with cancer stem cells, in the cells of human colorectal adenocarcinoma was 1,0 ± 0,2%, and in the presence of verapamil it reduced to 0,2 ± 0,12%.

HOW ANTIBIOTIC USAGE CAN CHANGE SAFETY OF PROBIOTICS?

Hossein Samadi Kafil[1], Ashraf Mohebati Mobarez[1], Mehdi Forouzandeh Moghadam[2]
[1]*Dep. Bacteriology,*
[2]*Dep Biotechnology, Faculty of Medical Sciences,*
Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Abstract: probiotics are live microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host. Enterococci are lactic acid bacteria (LAB) that are commonly associated with the human digestive tract as commensal organisms and are used in food and feed applications and as Probiotic. Several commercial Enterococal probiotics are available in Markets such Symbioflor 1. On the other hand, Enterococci rank among leading causes of nosocomial bacteremia, UTI and community acquired endocarditis the dual nature of Enterococcus faecalis presents a problem for food safety. In this study we aimed to investigate effect of antibiotic consumption in virulence of Enterococci. Suitable strains were selected and treated with Gentamicin, Ceftizoxime, Vancomycin, Ampicillin and Tigecycline. Gene's expressions for all colonization factors (As, ESP, EfaA, Ebp, and Ace) were measured by Real-time PCR. Microtiter plating and Bioflux methods were used to study the bacterial behavior on Antibiotic treatment conditions. Increase in expression of Esp (120%) and Efa (56%) after treatment with Gentamicin was dominant, Also we had 150% expression increase of Esp after treatment with Vancomycin. These results were confirmed for Gentamicin by Microtiter methods. These findings confirm effect of Antibiotic usages in changes of bacterial behavior and their genes expression. According to these results more attentions on presence of virulence genes and effect of environmental factors on their expression are needed for introducing new probiotic. This study was supported by Tarbiat Modares University, Antwerp University and National Elite Foundation of Iran.

Key words: Enterococci, Antibiotic, pathogenesis, Virulence genes

ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫХ СВОЙСТВ ТОЛЕРОГЕННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА, ПОЛУЧАЕМЫХ ИЗ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В ПРИСУТСТВИИ ИЛ-10.

Каралкин П.А.[1], Лупатов А.Ю.[1,2], Ярыгин К.Н.[1,2]
[1]*ФГБУ «ИБМХ» РАМН, 119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр.8.*
[2]*НПК «Стемма», 117574, г. Москва, Новоясеневский пр-т, д. 6, стр. 3.*

Многочисленные экспериментальные данные указывают на то, что в зависимости от факто-

ров микроокружения дендритные клетки (ДК) могут осуществлять не только позитивную, но и негативную регуляцию иммунологических реакций. Существование особого состояния ДК, называемого «толерогенным», необходимо для поддержания в организме периферической толерантности иммунной системы к собственным антигенам.

В настоящей работе ДК с толерогенными свойствами (толДК) были получены посредством добавления рекомбинантного ИЛ-10 на начальном этапе их дифференцировки из моноцитов периферической крови под действием ГМ-КСФ и ИЛ-4. Параллельно проводили стандартную дифференцировку ДК без ИЛ-10 с последующей стимуляцией бактериальным липополисахаридом (ЛПС) и получением, таким образом, функционально «зрелых» клеток (зрДК). Сравнительное изучение иммунофенотипов осуществляли методом проточной цитометрии. Подобно зрДК, популяция толДК демонстрирует повышенную экспрессию маркеров созревания CD83 и HLA-DR. В то же время, для толДК характерна одновременная экспрессия CD1a и маркера моноцитов/макрофагов CD14. Кроме того, большинство толДК несут на своей поверхности ингибиторные молекулы ILT3 и ILT4, также выявляемые у других популяций антиген-презентирующих клеток, способных индуцировать Т-регуляторные клетки. Методом иммуноферментного анализа было установлено, что толДК, стимулированные ИФН-гамма и ЛПС, секретируют высокие концентрации супрессорного цитокина ИЛ-10 на фоне незначительной продукции ИЛ-12. И, наконец, пролиферативный ответ аллогенных CD4+ Т-лимфоцитов в ответ на их стимуляцию толДК оказывался значительно снижен по сравнению со зрДК.

Таким образом, использование ИЛ-10 в составе дифференцировочной среды позволяет получать ДК с негативными иммунорегуляторными свойствами, которые могут найти применение в схемах иммунокоррекции аллергических и аутоиммунных заболеваний.

Работа выполнена при поддержке государственного контракта №16.740.11.0616 от 31.05.11, заключенного с Министерством образования и науки Российской Федерации.

CHARACTERIZATION OF THE IMMUNOREGULATORY PROPERTIES OF HUMAN TOLEROGENIC DENDRITIC CELLS DERIVED FROM PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES IN THE PRESENCE OF IL-10

Karalkin P.A.[1], **Lupotov A.Yu.**[1,2], **Yarygin K.N.**[1,2]
[1]*IBMC RAMS, 119121, Russia, Moscow, Pogodinskaya street, 10.*
[2]*Research company «Stemma», 117574, Russia, Moscow, Novoyasenevskii prosp., 6.*

Numerous experimental data indicate that, depending on the factors of the microenvironment dendritic cells (DCs) can perform not only positive but also negative regulation of immune responses. The existence of a special state DC in the body, called "tolerogenic" is necessary for the maintenance of peripheral tolerance of the immune system to its own antigens.

In this study, DCs with tolerogenic properties (tolDCs) were obtained by the addition of recombinant IL-10 in the initial stage of their differentiation from peripheral blood monocytes by means of GM-CSF and IL-4. In parallel the standard differentiation of DCs without IL-10, followed by stimulation with bacterial lipopolysaccharide (LPS) and thereby obtaining functionally "mature" cells (matDCs) was carried out. Comparative immunophenotyping study of cells was performed by flow cytometry. Like matDCs, population tolDCs demonstrated increased expression of maturation markers CD83 and HLA-DR. At the same time, tolDCs were distinct from matDCs in term of simultaneous expression of CD1a and monocyte/macrophage marker CD14. In addition, most tolDCs have on their surface inhibitory molecules ILT3 and ILT4 that also can be detected in other populations of antigen-presenting cells capable of inducing T-regulatory cells. By means of enzyme immunoassay it was showed that tolDCs stimulated by IFN-gamma and LPS secreted high levels of suppressor cytokine

IL-10 in the background of low production of IL-12. Finally, the proliferative response of allogeneic CD4+ T-cells in response to stimulation with tolDCs was significantly reduced compared with mat-DCs.

Thus, the use of IL-10 in the composition of differentiating medium enable production DCs with negative immunoregulatory properties, which potentially can be used in immunotherapeutic regimens of allergic and autoimmune diseases.

The work was supported by the grant № 16.740.11.0616 from 31/05/11, contracted with the Ministry of Education and Science of the Russian Federation.

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИГАНД-СВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОНОМЕРА ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО РОСТОВОГО ФАКТОРА БЕТА1 ЧЕЛОВЕКА (TGF-B1) ПОЛУЧЕННОГО В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI*

Ким Я.В., Гаспарян М.Э.
Институт биоорганической химии им.
академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (ИБХ РАН),
117997 Москва, Россия

Фактор роста TGF-β1 регулирует множество клеточных процессов, включая пролиферацию, дифференциацию, адгезию и апоптоз. Изменение уровня продукции TGF-β1 в крови может привести к развитию таких гиперпролиферативных заболеваний, как фиброз и рак.

Нами была разработана технология получения мономера TGF-β1 человека экспрессированного в клетках штамма *E.coli* BL21(DE3). Синтетический ген TGF-β1 был клонирован в плазмиду pET-32a вслед за геном слитного белка-партнера тиоредоксина непосредственно после ДНК-кодирующей последовательности сайта узнавания энтеропептидазой. Для получения мономерных молекул TGF-β1 аминокислотный остаток цистеин Cys77 был заменен на серин (Ser), который участвует в образовании межмолекулярной дисульфидной связи в молекуле димера. После ренатурации слитного белка Trx/TGFβ1/C77S из телец включения и его расщепления энтеропептидазой, очистку мономера TGF-β1/C77S проводили с помощью аффинной хроматографии на сорбенте Affi-gel 15, конъюгированным с рекомбинантным белком внеклеточным доменом рецептора TGF-β1 типа II (TBRII). Выход белка составил около 10-14 мг из 1 литра культуры. Методом иммуноферментного анализа (ELISA) было показано, что очищенный препарат мономера TGF-β1/C77S отличается высокой аффинностью к рецептору TBRII. Мономер TGF-β1 ингибировал пролиферацию клеток легочного эпителия норки (Mv1Lu) с эффективной дозой 20 нг/мл, что на два порядка хуже по сравнению с димерным белком (ED50=0,05 нг/мл). На основе результатов ELISA и анализа пролиферации клеток Mv1Lu мы предположили, что мономер в концентрации выше 2,5 нг/мл способен образовывать нековалентные димеры на поверхности рецептора TBRII. Таким образом, мономерный препарат TGF-β1 может быть использован в диагносте для определения концентрации белка в крови, а так же для терапии гиперпролиферативных заболеваний.

STUDY OF LIGAND-BINDING AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF RECOMBINANT HUMAN TGF-B1 MONOMER PRODUCED IN *ESCHERICHIA COLI*

Yana V. Kim, Marine E. Gasparian
M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS,
117997 Moscow, Russia

Transforming growth factor-beta (TGF-β) is a ubiquitous cytokine that control many fundamental aspects of cellular behavior, including proliferation, differentiation, adhesion and apoptosis. Changes in the level of TGF-β production by cells could lead to the development of hyperproliferative diseases, such as fibrosis and cancer.

We have developed a technology for production of the of human TGF-β1 monomers expressed in E. coli strain BL21(DE3). The DNA sequence encoding the human TGF-β1 was synthesized and cloned into plasmid pET-32a downstream to the gene of fusion partner thioredoxin immediately after the DNA sequence encoding enteropeptidase recognition site. The monomer of TGF-β1 was obtained by substitution of the cysteine 77 forming intermolecular disulfide bond in dimer to a serine (Ser) by site-directed mutagenesis. After renaturation the Trx/TGFβ1/C77S fusion was cleaved by recombinant human enteropeptidase light chain and purified by affinity chromatography using Affi-gel 15 conjugated with recombinant protein extracellular domain of TGF-β1 type II receptor (TBRII). Protein yield was about 10-14 mg from 1 liter cell culture. In sandwich ELISA monomeric TGF-β1 demonstrated binding affinity to soluble type II receptor comparable to the commercially available dimeric TGF-β1 expressed in CHO cells. Monomer TGF-β1 inhibited proliferation of mink lung epithelial (Mv1Lu) with an effective dose of 20 ng/ml, which was two orders of magnitude higher in comparison to dimeric protein (ED50 = 0,05 ng/ml). Based on the results of ELISA and analysis of cell proliferation assays of Mv1Lu cells we hypothesized that the monomers of TGF-β1 at concentrations above 2.5 ng/ml is capable to form non-covalent dimers on the surface of receptor TBRII. Thus, the preparation of monomeric TGF-β1 can be used in diagnostic for determination of protein concentration in the blood, as well as for therapy of hyperproliferative diseases.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОДУКЦИИ ОКСИДА АЗОТА В ТКАНЯХ СЕРДЦА ЖИВОТНЫХ ПРИ ГИПОКСИИ В ПРИСУТСТВИИ ДОНОРА И ИНГИБИТОРА СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА

Куроптева З.В.[1], Байдер Л.М.[1], Белая О.Л.[2], Крушинский А.Л.[3], Кузенков В.С.[3], Реутов В.П.[4]
[1]*Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН,*
119334 Москва, ул.Косыгина, 4
[2]*Московский государственный медико-стоматологический университет,*
127473 Москва, ул. Делегатская, 20/1
[3]*Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119992 Москва, Ленинские горы*
[4]*Институт высшей нервной деятельности и нейрофизиологии РАН,*
117485 Москва, ул. Бутлерова, 5а
e-mail: zvk@sky.chph.ras.ru

Методом ЭПР исследованы изменения содержания оксида азота в тканях сердца животных при гипобарической гипоксии на начальных этапах, сразу после прекращения действия гипоксии как отдельно, так и в присутствии нитрита натрия, как дополнительного источника оксида азота, и нитроаргинина (L-NNA), ингибитора синтеза оксида азота с участием NO-синтаз. Исследования проводили на крысах линии Крушинского-Молодкиной. Было поставлено 7 серий экспериментов по 6 животных в каждом эксперименте: 1 – контроль, при котором животным

внутрибрюшинно вводили физиологический раствор; 2 – гипоксия – в барокамере, имитирующей “подъем животных” на высоту 5000 м, при которой животным внутрибрюшинно вводили физиологический раствор; 3 – опыт с введением L-NNA в физиологическом растворе (в дозе 2,5 мг на 100 г массы тела вводили внутрибрюшинно); 4 – опыт с введением L-NNA в физиологическом растворе + гипоксия; 5 – опыт с введение $NaNO_2$ в физиологическом растворе (в дозе 0,5мг на 100г массы тела); 6 – опыт с введением $NaNO_2$ в физиологическом растворе + гипоксия; 7 – опыт с сочетанным введением $NaNO_2$ + L-NNA в физиологическом растворе + гипоксия.

Получены данные, которые показали, что при гипоксии, созданной «подъемом на высоту 5000 м», в организме животных наблюдается дополнительное образование оксида азота. Введение нитрита натрия, как донора оксида азота, также приводило к увеличению содержания NO в условиях гипоксии, по сравнению с введением нитрита натрия отдельно. Ингибитор NO-синтаз – нитроаргинин, в условиях гипоксии не ингибирует образование оксида азота. Предполагается, что в условиях гипоксии он сам, как обычное нитросоединение, подвергается восстановительной биотрансформации и становится дополнительным источником NO в организме.

STUDY OF NITRIC OXIDE PRODUCTION BY HYPOXIA BASED IN ANIMAL HEART TISSUES AT PRESENCE OF DONOR AND INHIBITOR OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS

Kuropteva Z.V.[1], Baider L.M.[1], Belaia O.L.[2], L. Krushinskii L.A.[3] V.S. Kuzenkov V.S.[3], Reutov V.P.[4]
[1]*Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS,*
ul. Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia
[2]*Moscow state medical stomatological university,*
ul. Delegatskaia 20/1, Moscow, 127473 Russia
[3]*Departament of Biology, Lomonosov Moscow State University,*
Leninskie Gory 1/12, Moscow, 119991 Russia
[4]*Institute of Higher Nervous Activity and Neurophysiology, RAS,*
ul. Butlerova 5a, Moscow, 117485 Russia

It was studied by ESR technique changes in the relative content of nitric oxide in the heart tissues of animals in hypobaric hypoxia (at the initial stages, immediately after the cessation of hypoxia) both separately and in the presence of sodium nitrite, an additional source of nitric oxide, and nitroarginine (L-NNA), an inhibitor of nitric oxide synthesis by NO synthases.

In this study we used male Krushinsky–Molodkina rats 5–6 months old weighing 280–320 g. We performed seven series of experiments (six animals in each experiment): 1–control (animals were intraperitoneally injected with saline); 2–experiment with placing animals that were intraperitoneally injected with saline to an altitude of 5000 m (pressure chamber hypoxia); 3–experiment with the injection of L-NNA in saline; 4–experiment with the injection of L-NNA in saline + hypoxia; 5–experiment with the injection of $NaN0_2$ in saline; 6–experiment with the injection of $NaN0_2$ in saline + hypoxia; and 7– experiment with combined injection of $NaN0_2$ + L-NNA in saline + hypoxia. Sodium nitrite at a dose of 0.5 mg per 100 g body weight and L-NNA at a dose of 2.5 mg per 100 g of body weight were injected intraperitoneally. In other series of experiments, L-NNA at a dose of 2.5 mg per 100 g of body weight was simultaneously injected with sodium nitrite at a dose of 0.5 mg per 100 g of body.

Data obtained show that hypoxia results in additional formation of nitric oxide in the body. Sodium nitrite, a nitric oxide donor, also increases the levels of NO during hypoxia. The NO-synthase inhibitor nitroarginine does not inhibit the formation of nitric oxide under hypoxic conditions: the level of NO produced in the presence of nitroarginine and sodium nitrite was greater than in the presence of

sodium nitrite alone. It is assumed that, under hypoxic conditions, nitroarginine undergoes biotransformation as a common nitro compound and becomes an additional source of NO in the body.

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА, АНАЛИЗА ЕГО ПАТОГЕННОСТИ И ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

Лейнсоо А.Т., Зименков Д.В., Кулагина Е.В., Антонова О.В., Грядунов Д.А.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
119991, Москва, ул. Вавилова, д.32

За последнее пятилетие в РФ отмечен резкий рост туберкулеза (ТБ), обладающего не только множественной (МЛУ), но и широкой лекарственной устойчивостью (ШЛУ) – формы ТБ, устойчивого к изониазиду и рифампицину, а также к любому фторхинолону, и, как минимум, к одному из трех инъекционных противотуберкулезных препаратов второй линии терапии (амикацин, канамицин или капреомицин). В мире ежегодный прирост случаев ШЛУ ТБ оценивается не менее, чем в 25 000, и почти все они приводят к смертельному исходу.

Для быстрого обнаружения МЛУ и ШЛУ туберкулеза разработан молекулярный метод на основе оригинальной российской технологии гидрогелевых биологических микрочипов (www.biochip.ru).

Микрочип содержит иммобилизованные олигонуклеотидные зонды, последовательности которых специфичны фрагменту инсерционного элемента IS6110, характерного для микобактерий туберкулезного комплекса, однонуклеотидным полиморфизмам, устанавливающим принадлежность возбудителя туберкулеза к эндемичным для территории РФ семействам Beijing, Haarlem, LAM, Ural, характеризующихся различной патогенностью, а также мутантным вариантам генов *rpoB, katG, inhA, ahpC, gyrA, gyrB, rrs, eis, embB*, являющихся маркерами лекарственной устойчивости *Mycobacterium tuberculosis*.

Процедура анализа включает мультиплексную амплификацию и флуоресцентное мечение исследуемых фрагментов микобактериального генома с последующей гибридизацией ПЦР-продуктов на микрочипе. Методика позволяет выявлять, суммарно, 104 генетических детерминанты устойчивости к рифампицину, изониазиду, фторхинолонам, аминогликозидам/капреомицину и этамбутолу. Внедрение разработанного метода в клиническую практику позволит своевременно назначать адекватную терапию, корректировать её в процессе лечения, а также предотвращать распространение особо опасных форм M. tuberculosis.

MOLECULAR ASSAY FOR IDENTIFICATION OF TUBERCULOSIS CAUSATIVE AGENT, ANALYSIS OF ITS *PATHOGENICITY AND DRUG SUSCEPTIBILITY TESTING*

A.T. Leinsoo, D.V. Zimenkov, E.V. Kulagina, O.V. Antonova, D.A. Gryadunov
Engelhardt Institute of Molecular Biology Russian Academy of Sciences,
119991, Vavilova st. 32, Moscow, Russia

Over the past five years, a number of Multidrug-Resistance and Extensively Drug-Resistant tuberculosis (MDR and XDR TB, correspondingly) cases in Russia increased drastically. XDR-TB is defined as TB that has developed resistance to at least rifampin and isoniazid, as well as to any member of the fluoroquinolones and at least one of the following second-line anti-TB injectable drugs: kanamycin, capreomycin, or amikacin. Annual growth of XDR TB cases estimated as 25 000 worldwide and almost all of them cause death.

A molecular assay based on original Russian technology of hydrogel microarrays (biochips, www.biochip.ru) has been developed for fast identification of multidrug-resistant (MDR) and XDR tuberculosis.

The microarray contains immobilized oligonucleotides based on the corresponding sequences of IS6110 region that is typical for *Mycobacterium tuberculosis* complex, the sequences of single nucleotide polymorphisms that identify endemic Russian TB genotypes such as Beijing, Haarlem, LAM, Ural which differ from each other by their pathogenicity, and also the sequences of *rpoB, katG, inhA, ahpC, gyrA, gyrB, rrs, eis, embB* genes with the mutations that act as markers for identification MDR and XDR TB.

The procedure includes multiplex amplification of analyzed fragments of mycobacterial genome with simultaneous fluorescent labeling of PCR-products followed by hybridization on the developed microarray. The assay allows one to identify 104 genetic determinants of TB resistance to rifampin, isoniazid, fluoroquinolones, aminoglycosides/capreomycin and ethambutol. The application of the developed method in clinical practice will lead to the coincident medication of tuberculosis with the timely therapeutic correction and will promote prevention of the expansion of extensively drug resistant M. tuberculosis strains.

РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-ТЕСТА ДЛЯ ОЦЕНКИ КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ВАГИНАЛЬНОГО БИОТОПА

Несчисляев В.А.[1], Столбова М.Г.[1], Раев А.Б.[2]
[1]*ФГУП «НПО «Микроген» МЗРФ «Пермское НПО «Биомед»,г.Пермь, ул.Братская, 177;*
[2]*МУЗ МСЧ №9 им. Тверье М.А., г.Пермь, ул.Братьев Игнатовых, 2.*

Лактобактерии занимают доминирующее положение в составе нормального вагинального микробиоценоза, обеспечивая колонизационную резистентность данного биотопа за счет проявления антагонистической активности, в том числе в отношении патогенной и условно-патогенной микрофлоры. Снижение количества лактобактерий вызывает развитие дисбиоза вагинального биотопа.

Учитывая то, что традиционный культуральный метод диагностики является трудоемким и продолжительным, представляется целесообразной разработка и внедрение экспресс-метода диагностики дисбиотических состояний влагалища, связанных с элиминацией лактобактерий и снижением колонизационной резистентности биотопа.

Разработанный метод оценки колонизационной резистентности основан на количественном определении *in vitro* антагонистической активности выделенной смешанной вагинальной культуры, влияющей на биолюминесценцию культуры генномодифицированной *Escherichia coli* со встроенным геном свечения при кратковременной 2-часовой совместной экспозиции.

Измерительный прибор для регистрации свечения тест-штамма – люминометр серии «Биотокс» – позволяет автоматически вычислить индекс антагонистической активности, количественно равный проценту подавления свечения по сравнению с исходным уровнем. Низкая величина индекса (<50%) свидетельствует о снижении антагонистической активности и количества лактобактерий в составе вагинальной микрофлоры, и, следовательно, колонизационной резистентности биотопа. На основании полученных результатов можно сделать вывод о наличии дисбиоза вагинальной флоры, в том числе бактериального вагиноза и степени его выраженности.

Следует отметить, что предлагаемый тест можно применять в качестве моноварианта диагностики или в комплексе с другими методами оценки состояния вагинального микробиоценоза.

THE DEVELOPMENT OF THE QUICK TEST TO ESTIMATE COLONIZATION RESISTANCE OF A VAGINAL BIOTOPE

Neschislyaev V.A.[1], Stolbova M.G.[1], Raev A.B.[2]
[1]*Perm Branch «Biomed» of «Microgen» State Company, Perm;*
[2]*Medical unit № 9. of Tverye M.A., Perm.*

Lactobacilli dominate in the normal vaginal microbiota, providing colonization resistance of the biotop due to their antagonistic activity in point of pathogenic and opportunistic microorganisms. The decrease in the number of lactic acid bacteria causes the development of a vaginal biotope dysbiosis.

Considering that the traditional cultural method of diagnosis is laborious and long-continued, it seems advisably to develop and implement a quick test to diagnose the dysbiosis of vagina connected with elimination of lactobacilli and reduction of biotope colonization resistance.

The developed method for colonization resistance estimation is based on the *in vitro* antagonistic activity quantification of isolated mixed vaginal culture, influencing on bioluminescence of culture genetically modified *Escherichia coli* with gene of luminescence for two-hour joint exposure.

Luminometer series «Biotox» is measuring device for luminescence registration, which allows to calculate automatically the index of antagonistic activity, quantitatively equal to the percentage of luminescence reduction compared to the baseline was used. The low value of the index (<50%) indicates a decline of antagonistic activity and the number of lactobacilli in the vaginal flora, and consequently biotope colonization resistance. Based on the obtained results it is possible to draw a conclusion about presence or absence vaginal flora dysbiosis, including bacterial vaginosis and its degree of manifestation.

It should be noted that the proposed test can be used as an independent diagnostic procedure or in combination with other methods of the vaginal microbiota estimation.

ПОЛУЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИ ЦЕННЫХ АНАЛОГОВ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА АРЕНИЦИНА МЕТОДОМ САЙТ-НАПРАВЛЕННОГО МУТАГЕНЕЗА

Пантелеев П.В., Болосов И.А., Морозова Х.А., Баландин С.В., Овчинникова Т.В.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. академиков
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук,
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Возможность использования эндогенных антимикробных пептидов (АМП) для борьбы с инфекциями, вызываемыми антибиотикорезистентными патогенами, в последние годы привлекает пристальное внимание исследователей в связи со снижением терапевтической эффективности традиционных противоинфекционных средств. Большинство АМП характеризуются широким спектром антимикробной активности, способностью быстро уничтожать клетки-мишени и мембранолитическим механизмом действия. К числу наиболее активных и устойчивых к действию протеаз АМП животного происхождения относятся молекулы, образующие стабилизированную дисульфидными связями β-шпилечную структуру. Однако сравнительно высокая цитотоксичность данных пептидов является препятствием на пути к созданию лекарственных средств на их основе.

Представителями данного класса АМП являются ареницины – катионные пептиды, выделенные из целомоцитов морского кольчатого червя *Arenicola marina* [1]. Молекулы ареницинов состоят из 21 аминокислотного остатка и стабилизируются одной дисульфидной

связью, образующей 18-членный макроцикл. С целью создания антимикробного средства, обладающего пониженной цитотоксичностью по сравнению с природным ареницином-1, методами генной инженерии было получено семейство модифицированных аналогов этого пептида, содержащих аминокислотные замены в ряде положений полипептидной цепи. Методика получения аналогов ареницина-1 была основана на сайт-направленном мутагенезе плазмиды pET-His8-TrxL-Ar1, которая использовалась ранее для гетерологической экспрессии пептида, идентичного природному. Особенностью данной системы экспрессии является использование РНК-полимеразы и промотора бактериофага T7 в клетках *E.coli* BL21(DE3). В ходе экспрессии целевой пептид получали в виде гибридного белка, содержащего октагистидиновую последовательность и модифицированный тиоредоксин, обеспечивающие, соответственно, возможность аффинной очистки белка и нейтрализацию его токсичности для клетки-продуцента. Введение необходимых замен осуществляли с помощью серии реакций инвертированной ПЦР-амплификации экспрессирующей плазмиды с мутагенизирующими праймерами. В роли последних выступали смысловые олигонуклеотиды, предназначенные для отжига на участке плазмиды, кодирующем последовательность ареницина-1, и содержащие точечные нуклеотидные замены. Обратным праймером служил универсальный праймер на С-концевую область тиоредоксина. В 5'-концевые участки праймеров были введены сайты рестрикции HindIII, что позволило проводить рециркуляризацию плазмиды с помощью лигазной реакции по липким концам. Отбор аналогов ареницина с повышенным терапевтическим индексом проводили на основе сравнительного тестирования их антимикробной и гемолитической активности.

Работа поддержана в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (соглашение № 8043 от 20.07.2012 г.).

1. Ovchinnikova T.V., Aleshina G.M., Balandin S.V., Krasnosdembskaya A.D., Markelov M.L., Frolova E.I., Leonova Y.F., Tagaev A.A., Krasnodembsky E.G., Kokryakov V.N.Purification and primary structure of two isoforms of arenicin, a novel antimicrobial peptide from marine polychaeta *Arenicola marina.* FEBS Lett., 2004, 577(1-2), 209-214.

PRODUCTION OF THERAPEUTICALLY VALUABLE ANALOGS OF ANTIMICROBIAL PEPTIDE ARENICIN USING SITE-DIRECTED MUTAGENESIS

Panteleev P.V., Bolosov I.A., Morozova K.A., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V.
Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Sciences,
Miklukho-Maklaya str. 16/10, 117997 Moscow, Russia

In recent years, endogenous antimicrobial peptides (AMP) have received extensive attention as possible alternatives to conventional antibiotics due to their rapid efficacy to a broad range of multiresistant pathogens, the membranolytic mode of action and the consequent low rate of resistance development. Among the most potent and proteolytically resistant AMPs of animal origin are molecules forming β-hairpin structure stabilized by disulphide bonds. However their comparatively high toxicity against mammalian cells is an obstacle in the way of development of AMP-based therapeutics.

Representatives of this class are arenicins – cationic peptides purified from coelomocytes of the marine polychaeta *Arenicola marina* [1]. Arenicins are 21-residue antimicrobial peptides stabilized by a single disulfide bond, forming a large 18-residue ring. To gain a better understanding of structure-activity relationships and to search for antimicrobials having lower cytotoxicity we designed a number of arenicin-1 recombinant analogs with single amino acid substitutions in a polypeptide chain.

The modified arenicin analogs were obtained by site-directed mutagenesis of plasmid pET-His8-TrxL-Ar1 which had been used earlier for heterological expression of the original peptide. This expression system is based on the use of bacteriophage T7 RNA polymerase and T7lac promoter in *E.coli* BL21(DE3) cells. To improve yield and to facilitate the purification process the recombinant peptides were obtained in the form of fusion proteins with N-terminal octahistidine tag and modified thioredoxin A.

The mutagenesis technique was based on inverse PCR amplification of the whole expression plasmid. A set of mutagenic oligonucleotides which annealed at the arenicin-1 coding sequence were used as sense primers, and one universal oligonucleotide specific to C-terminal part of modified thioredoxin A acted as antisense primer. The HindIII restriction sites were incorporated into 5'-ends of primers to facilitate PCR product recirculation by ligation using compatible cohesive ends. The most therapeutically valuable analogs were selected by comparative analysis of their antimicrobial and hemolytic activities.

The work was supported by the Russian Federal Target Program "Scientific and Science-Educational Personnel of Innovative Russia for 2009 to 2013" (the state contract №8043).

1. Ovchinnikova T.V., Aleshina G.M., Balandin S.V., Krasnosdembskaya A.D., Markelov M.L., Frolova E.I., Leonova Y.F., Tagaev A.A., Krasnodembsky E.G., Kokryakov V.N.Purification and primary structure of two isoforms of arenicin, a novel antimicrobial peptide from marine polychaeta *Arenicola marina.* FEBS Lett., 2004, 577(1-2), 209-214.

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАБА НА ПОЛИСАХАРИДНЫЕ НОСИТЕЛИ

Распопова Е.А., Коротаева А.И., Белов А.А.
РХТУ им. Д.И. Менделеева, каф. биотехнологии;
НИИ текстильных материалов
E-mail: ABelov2004@ yandex.ru

Существует много способов введения лекарственных препаратов и биологически активных веществ в текстильный материал. Наиболее часто используемые, это химическая иммобилизация, основанная на образовании различных химических связей между лечебным веществом и функциональными группами волокна, и иммобилизация лечебных препаратов за счет физических сил. Модификация (иммобилизация) фермента, способная избирательно ограничить его контакт с рецепторами клеток, представляется наиболее реальным путем снижения повреждающего действия данной группы препаратов. Цели и задачи иммобилизации ферментов, направленные на придание им свойств, необходимых для лекарственных средств, разнообразны. Как показал опыт, решение проблемы реально, и если ряд вопросов не решен в полной мере, то несомненно доказана принципиальная возможность существенного смягчения отрицательных свойств нативных субстанций.

Основные проблемы, которые возникают при разработке и выпуске перевязочных материалов содержащих ферменты:

1- падение ферментативной активности в процессе иммобилизации препарата;

2- падение ферментативной активности в процессе высушивания иммобилизованного препарата;

3- падение ферментативной активности в процессе хранения иммобилизованного препарата;

4- падение ферментативной активности в процессе стерилизации иммобилизованного препарата;

5- падение ферментативной активности в процессе использования иммобилизованного препарата (действие температуры тела, pH, различных ингибиторов и т.д.).

В данной работе было исследовано изменение ферментативной активности (ФА) в процессе иммобилизации, высушивании и хранении протеолитического комплекса из гепатопанкреаса краба (ПК) на различные носители: хитозановые гели (Хт), целлюлозу (Ц), диальдегидцеллюлозу (ДАЦ), Ц-Хт и ДАЦ-Хт. Наибольшие потери ФА вызывают Ц и ДАЦ. Это может быть связано как с попаданием фермента в поры носителя, так и взаимодействием альдегидных групп модифицированного полимера с белковой глобулой. Высушивание ПК на полиэтиленовой подложке на воздухе, не ведет к значительному изменению ФА (потери ФА не более 10-15%). Кинетика инактивации иммобилизованных ферментов, в процессе хранения, описывается характерной для гидролаз сложной экспоненциальной ($A\tau/Ao=a_1*e^{-k_1\tau} + a_2*e^{-k_2\tau}$) зависимостью. В полулогарифмических координатах установленные зависимости имеют вид ломаной линии, каждая из которых описывается уравнением первого порядка. Двухфазная кинетика инактивации иммобилизованных форм протеиназ – факт известный в литературе. Кинетические закономерности такого рода могут быть объяснены общим механизмом инактивации, включающим существование двух форм фермента, различающихся активностью и устойчивостью к денатурирующим воздействиям. Т.е., вне зависимости от конкретных деталей механизма и соотношения элементарных констант, двухэкспоненциальный характер инактивации показывает, что механизм инактивации включает две различающиеся по активности или устойчивости формы фермента.

IMMOBILIZATION OF PROTEOLYTIC COMPLEX FROM HEPATOPANCREAS CRAB IN POLYSACCHARIDES CARRIERS

E.A.Raspopova, A.I.Korotaeva, A.A.Belov
RCTU him. D.I.Mendeleeva, ch. Biotechnologies,
Research Institute of Textile Materials.
E-mail: ABelov2004@ yandex.ru

There are many ways of introduction of medicinal preparations and biologically active substances in textile material. The most commonly used, is the chemical immobilization, based on the formation of various chemical bonds between the medical substance and functional groups of fiber, and immobilization of medicinal drugs at the expense of the physical forces. Modification (immobilization) of an enzyme that is capable of selectively limit its contact with the receptor cells, seems to be the most real way of reducing the damaging action of this group of drugs. Goals and objectives of the immobilization of enzymes, aimed at giving them the properties required for drugs, varied. As experience has shown, the solution of the problem is real, and if a number of issues not resolved to full extent, then undoubtedly proved the principal possibility of significantly reducing the negative properties of alternative substances.

The main problems that arise in the design and manufacture of bandaging materials containing enzymes:

1 - the fall of enzymatic activity in the process of immobilization of the product;
2 - the fall of enzymatic activity in the process of drying of immobilized product;
3 - the fall of enzymatic activity in the process of storage immobilized product;
4 - the fall of enzymatic activity in the sterilization process immobilized product;
5 - the fall of enzymatic activity in the process of use of immobilized product (action body temperature, pH, various inhibitors, etc.).

In this paper, we analyzed the change of the enzymatic activity (FA) in the process of immobiliza-

tion, drying and storage of proteolytic complex from crab hepatopancreas (PC) on different carriers: chitosan gels (Ch), cellulose (C), dialdehidcellulose (DAC), C-Ch and DAC-Ch. The greatest losses FA cause-C and DAC. This may be due to the release of the enzyme in the pores of the carriers, and interaction aldehidec groups of the modified polymer with protein globulas. Drying of the PC on plastic substrate in the air, does not lead to a significant change of the FA (loss FA no more than 10-15%). Kinetics of inactivation of immobilized enzymes, in the course of storage, describes typical for hidrolas complex exponential ($A\tau/Ao=a1*e-k1\tau + a2*e-k2\tau$) dependence. In semilogarifmic coordinates specified depending have the form of a broken line, each of which is described by the equation of the first porijadok. Biphasic kinetics of inactivation of immobilized forms of proteinase – a fact well known in the literature. Kinetic regularities of this kind can be explained by the General mechanism of inactivation, including the existence of two forms of the enzyme, distinct activity and resistance to denaturations influences. I.e., regardless of the specific components of the mechanism and the ratio of elementary constants, biexponentional nature of inactivation shows that the mechanism of inactivation includes two differing in the activity or the sustainability of the form of the enzyme.

РОСТОВЫЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК (МСК) ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПАЦИЕНТОК С ОПУХОЛЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Самойлович М.П.[1], **Пиневич, А.А.**[1], **Айзенштадт, А.А.**[2], **Шашкова, О.А.**[1], **Климович, В.Б.**[1]

[1]*ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий», Россия, 197758, Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская, д. 70,*

[2]*ООО «Покровский банк стволовых клеток», Санкт-Петербург*

Образцы подкожной жировой ткани были получены от пяти пациенток в ходе операций по поводу опухолей молочной железы. Две из них до операции подвергались лучевой и полихимиотерапии. Контролем служили МСК из липоаспиратов двух здоровых доноров. МСК выделяли по стандартной методике и инкубировали в газовой фазе с 20% O_2 и 5% CO_2 (нормоксия). Влияние гипоксии изучали, инкубируя культуры в газовой фазе с 5% O_2 и 5% CO_2.

На первых 2-х пассажах культивирования в нормоксии время удвоения популяций МСК здоровых доноров и пациенток, не получавших лучевой и полихимиотерапии, варьировало индивидуально в пределах от 60 до 220 часов. Наибольшую скорость пролиферации наблюдали на 3–6 пассажах, затем рост культур замедлялся. На первом пассаже время удвоения МСК пациенток, получивших лучевую и химиотерапию, составляло 299 и 592 часа. После одного-двух пересевов клетки от обеих пациенток, получавших полихимиотерапию, прекращали пролиферацию. Культивирование всех образцов МСК в гипоксии приводило к стимуляции пролиферации клеток и укорочению времени удвоения популяции. Изучение поверхностных антигенов МСК показало, что наиболее стабильно на клетках представлены антигены CD73, CD90, CD44 и CD29. Процент клеток, экспрессирующих антигены CD105 и CD10, значительно различался в образцах от разных индивидов и варьировал в процессе пассирования.

По экспрессии поверхностных маркеров, ростовым характеристикам в условиях нормоксии и гипоксии, а также по способности к дифференцировке, МСК жировой ткани пациенток с опухолями молочной железы не отличались от МСК доноров. МСК пациенток после полихимиотерапии не были способны пролиферировать в условиях культуры.

GROWTH AND PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS (MSC) FROM BREAST CANCER PATIENTS

Samoylovich, M.P.[1], **Pinevich, A.A.**[1], **Isenstadt, A.A.**[2], **Shashkova O.A.**[1], **Klimovich V.B.**[1],
[1]*Russian Research Centre for Radiology and Surgical Technologies,*
St. Petersburg, Pesochny settlement, Leningradskaya street, 70, Russia, 197758,
[2]*Stem Cells Bank Pokrovski, St. Petersburg*

Subcutaneous adipose tissue samples were obtained from five patients undergoing elective surgery. Two of them received radio- and chemotherapy before surgery. Healthy donor lipoaspirate-derived MSC were taken as reference samples. MSC were isolated according to the standard procedure and cultivated in normoxia (20% oxygen and 5% CO_2). Influence of hypoxia on MSC was studied during incubation in gas phase with 5% oxygen and 5% CO_2.

Population doubling time of MSC from healthy donors and patients without therapy varied individually from 60 to 220 hours at first and second passages of cultivation. Maximum proliferation rate was registered from third to sixth passages of cultivation with subsequent cell growth decline. MSC obtained from patients with radio- and chemotherapy exhibited population doubling time of 299 and 592 hours. After one or two subcultivations MSC from these patients ceased proliferation. Cultivation of all MSC samples in hypoxia stimulated cell proliferation and resulted in population doubling time reduction. Surface antigen study demonstrated that CD73, CD90, CD44, and CD29 were invariably expressed on MSC. The amount of cells that express CD105 and CD10 antigens varied significantly between different MSC samples and during subcultivation.

MSC from adipose tissue of patients with breast cancer showed the same surface antigen expression and growth characteristics in normoxia and hypoxia as donor MSC. At the same time MSC from patients after radio- and chemotherapy were not capable to proliferate in culture.

ИНДИКАЦИЯ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО И ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТОВ ДЕЙСТВИЯ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА ДЕТСКОЕ НАСЕЛЕНИЕ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ АЭРОГЕННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ

Землянова М.А., Щербина С.Г.
ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»,
614045, Россия г. Пермь, ул. Монастырская, 82

Ароматические углеводороды относятся к высокоопасным и умеренно опасным химическим веществам (2 и 3 класс опасности), обладающим широким спектром токсических эффектов, в том числе выраженной мутагенной активностью.

Целью настоящего исследования являлось изучение цитогенетических нарушений буккальных эпителиоцитов у детей в возрасте 3–7 лет, проживающих в условиях внешнесредового воздействия ароматических углеводородов (70 человек – группа наблюдения). Для выполнения сравнительного анализа обследованы дети аналогичного возраста (65 человек – группа сравнения), проживающие в отсутствии экспозиции исследуемых химических веществ.

Результаты выполненных исследований позволили установить, что в условиях хронического внешнесредового аэрогенного воздействия ароматических углеводородов (бензола, этилбензола, о-, м-, п-ксилола, толуола, стирола, фенола) в концентрации до 2,0 ПДКс.с или 6,7 RfCchr, установлено повышенное содержание в крови детей фенола в концентрации 0,069±0,012 мг/дм^3 и идентифицированы бензол, о-ксилол, толуол, стирол в концентрациях

от 0,0059 до 0,0492 мг/дм^3, не обнаруженные у детей группы сравнения. При этом зарегистрирована повышенная частота выявления в буккальных эпителиоцитах цитогенетических нарушений: микроядер, ядерных протрузий, ядер с круговыми насечками и вакуолизацией, апоптозных тел и многоядерных клеток, достоверно превышающая аналогичные показатели детей в группе сравнения до 5,0 раз (p=0,000-0,040), доказано имеющая зависимость от концентрации исследуемых ароматических углеводородов в крови (R^2=0,12-0,26; F=4,82-14,10; p=0,001-0,034). Данные нарушения свидетельствуют о повышенной генетической нестабильности, зафиксированной в клетках буккального эпителия детей, а следовательно, и о генотоксическом и цитотоксическом эффектах действия ароматических углеводородов в условиях хронической аэрогенной экспозиции.

THE INDICATION OF GENOTOXIC AND CYTOTOXIC EFFECTS OF CHRONIC AEROGENIC EXPOSURE OF CHILDREN TO AROMATIC HYDROCARBONS

Zemlyanova M.A., Shcherbina S.G.
FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies",
82 Monastyrskaya St, Perm 614045, Russia

Aromatic hydrocarbons are highly hazardous and moderately hazardous chemical substances (hazard category 2 and 3), which have a wide range of toxic effects including apparent mutagenic activity.

The aim of the study was to scrutinize cytogenetic disorders in buccal epitheliocytes in children (aged 3-7 years) chronically exposed to aromatic hydrocarbons outdoors. The study group consisted of 70 children. To carry out a comparative analysis, we examined 65 children (a control group) of the same age who were not exposed to the studied chemicals.

The children with chronic aerogenic exposure to aromatic hydrocarbons (benzene, ethylbenzene, o-, m-, p-xylene, toluene, styrene, phenol) at concentrations up to 2 times the MPC (average daily) or 6.7 times the RfCchr demonstrated increased levels of phenol at a concentration of 0.069±0.012 mg/dm^3 in blood and the presence of benzene, o-, m-, p-xylene, toluene and styrene at concentrations from 0.0059 to 0.0492 mg/dm^3, which were not identified in the control group. Moreover, we observed an increase in the prevalence of cytogenetic disorders in buccal epitheliocytes: micronuclei, nuclear protrusions, nuclei with round notches and vacuolization, apoptotic bodies and multinucleate cells, which significantly exceeded similar parameters in the control group children by up to 5.0 times (p=0.000-0.040) and which, as had been proven, depended on the concentration of the studied aromatic hydrocarbons in blood (R^2=0.12-0.26; F=4.82-14.10; p=0.001-0.034). These disorders indicate an increased genetic instability, which was observed in the children's buccal epitheliocytes, and, therefore, genotoxic and cytotoxic effects of chronic aerogenic exposure to aromatic hydrocarbons.

ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ОБРАЗУЕМЫХ МУТАНТНЫМИ ШТАММАМИ *AMYCOLATOPSIS ORIENTALIS* SUBSP. *EREMOMYCINI* И *STREPTOALLEFEICHUS CREMEUS* SUBSP. *TOBRAMYCINI*

Тренин А.С., Лапчинская О.А., Погожева В.В., Гладких Е.Г., Бычкова О.П., Федорова Г.Б., Катруха Г.С.
ФГБУ "НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф.Гаузе"
РАМН, 119021, Москва, Россия, Большая Пироговская ул.11;
as-trenin@mail.ru

Изучение природных соединений, образуемых мутантными штаммами *Amycolatopsis orientalis* subsp. *eremomycini* и *Streptoallefeichus cremeus* subsp. *tobramycini* – актиномицетными продуцентами антибактериальных антибиотиков эремомицина и тобрамицина, позволило выявить соединения, обладающие выраженным противогрибковым действием. Бутанольные и хлороформные экстракты, полученные из культуральной жидкости продуцентов, проявили заметную активность в отношении мицелиальных грибов *Aspergillus niger* и *Fusarium oxysporum,* а также дрожжей *Candida albicans.* Указанная активность сочетается с подавляющим действием в отношении микробной культуры *Halobacterium salinarum* (*H. halobium* ATCC 29341), высоко чувствительной к действию ингибиторов биосинтеза стеролов, не снимается в присутствии мевалоновой кислоты и, таким образом, вероятно связана с образованием продуцентами соединений, являющихся ингибиторами поздних этапов биосинтеза стеролов. Обнаружение у продуцентов антибактериальных антибиотиков специфической противогрибковой активности свидетельствует о перспективности дальнейшего изучения подобных мутантов с целью создания новых противогрибковых антибиотиков.

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF NATURAL COMPOUNDS PRODUCED BY MUTANT STRAINS OF *AMYCOLATOPSIS ORIENTALIS* SUBSP. *EREMOMYCINI* AND *STREPTOALLEFEICHUS CREMEUS* SUBSP. *TOBRAMYCINI*

Trenin A.S., Lapchinskaya O.A., Pogozheva V.V., Gladkikh E.G., Bychkova O.P., Fedorova G.B., Katrukha G.S.
Gauze Institute of New Antibiotics, RAMS,
119021 Moscow, Russia; as-trenin@mail.ru

Investigation of natural compounds produced by mutant strains *Amycolatopsis orientalis* subsp. *eremomycini* and *Streptoallefeichus cremeus* subsp. *tobramycini* that are actinomycete producers of antibacterial antibiotics eremomycin and tobramycin allowed to reveal compounds possessing antifungal action. Butanol and chloroform extracts of culture broth of these producers exhibit evident activity against fungous strains *Aspergillus niger* and *Fusarium oxysporum,* as well as yeast strains *Candida albicans.* Indicated activity combines with capacity to inhibit highly susceptible to sterol biosynthesis inhibitors *Halobacterium salinarum* (*H. halobium* ATCC 29341) growth, remains in the presence of mevalonic acid and seems to be the result of action of compounds that inhibit late steps of sterol biosynthesis. Detection of specific antifungal activity in culture broth of antibacterial antibiotics producers reveals their high potential in further investigations for the purpose of development of new antifungal antibiotics.

ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ КОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУЛЬПЫ ЗУБА И МИНЕРАЛ-ПОЛИМЕРНЫХ СКАФФОЛДОВ, ИЗГОТОВЛЕННЫХ ПО ТЕХНОЛОГИИ СЕЛЕКТИВНОГО ЛАЗЕРНОГО СПЕКАНИЯ

Вахрушев И.В.[1,2], **Ярыгин К.Н.**[1,2]
[1]*НИИ биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН,*
[2]*НПК Стемма*

В современной медицине для восстановления костных дефектов все чаще применяются методы тканевой инженерии, в общем виде основанные на введении в область повреждения остеопрогениторных клеток, иммобилизованных на биодеградируемомскаффолде. Это позволяет в области дефекта имитировать условия естественной среды организма и активировать регенеративный потенциал за счет привлечения собственных мезенхимальных стволовых клеток (МСК). Конечной целью операции является постепенное замещение имплантируемых конструкций нормальной костной тканью.

Данная работа посвящена разработке основных подходов к тканевой инженерии кости с использованием МСК пульпы зуба, иммобилизованных на минерал-полимерных скаффолдах нового поколения, изготавливаемых по технологии поверхностного селективного лазерного спекания (ПСЛС).

Для получения культур адгезивных мезенхимальных клеток мы использовали пульпу молочных зубов. Наличие МСК в культурахбыло подтверждено путём исследования экспрессии ряда поверхностных маркеров (CD29+, CD34-, CD44+, CD45-, CD49b+, CD73+, CD90+, и HLA-DR-) (рис. 1). Полученные культуры были успешно использованы для заселения полилактогликолидныхскаффолдов, изготовленных методом ПСЛС (рис. 2). Далее был проведен поиск оптимального кальций-фосфатногоматериала, перспективного с точки зрения включения в состав скаффолдов для индукции остеогенной дифференцировки клеток. Среди исследованных материалов (*брушит-гидроксиапатитный цемент; гидроксиапатитный цемент; трикальций-фосфат, полученный конверсией гипса; трикальцийфосфатная керамика*) максимальная выживаемость и пролиферативная активность клеток регистрировалась в случае культивирования с трикальцийфосфатной керамикой (рис. 3). Исследование влияния трикальцийфосфатной керамики на остеогенную дифференцировку показало, что этот материал дополнительно стимулирует индуцированную дексаметазоном дифференцировку клеток, что проявлялось в увеличении количества локусов окостенения и усилении продукции клетками экстрацеллюлярного матрикса (рис. 4).

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что пульпа молочного зуба является доступным и эффективным источником МСК, а разрабатываемые минерал-полимерные скаффолды – перспективным носителем клеточного материала для тканевой инженерии кости.

A BONE TISSUE ENGINEERING APPROACHES IN MESENCHYMAL STEM CELLS FROM THE PULP AND NOVEL COMPOSITE SCAFFOLDS PRODUCED BY SURFACE SELECTIVE ELASERSINTERING

Vakhrushev I.V.[1,2],**Yarigin K.N.**[1,2]
[1]*V.N. Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry,*
Russian Academy of Medical Sciences,Moscow, Russia
[2]*The Stemma Research-and-Developmentcompany, Moscow, Russia*

Most of the tissue engineering approaches increasingly used in the modern medicine for reconstruction of bone defects are based on the seeding of osteoprogenitor cells onto a biodegradable scaf-

fold followed by implantation at the injury site. This tissue-like construct mimics natural bone matrix and activates the body's own regenerative mechanisms due to in volvment of patient's own mesenchymal stem cells (MSCs). The ultimate goal of the procedure is gradual replacement of the implanted construct by newly formed bone tissue.

The objective of the present work was to develop a tissue engineering approach to bone regeneration using dental pulp-derived mesenchymal cells seeded onto polymer-mineral scaffolds fabricated by a new method of surface selective laser sintering (SSLS).

Cultures of adherent mesenchymal cells were derived from the pulp of human deciduous teeth. Evidence for the presence of MSCs in the culture was obtained from an analysis of the surface marker expression profile (CD29+, CD34-, CD44+, CD45-, CD49b+, CD73+, CD90+, и HLA-DR-) (Fig. 1). The cell cultures obtained were successfully used to populate polylactoglycolide scaffolds produced by SSLS (Fig. 2). Experiments with various calcium phosphate materials were carried out to select the most promising among them for incorporation into composite scaffolds to induce the efficient osteogenic differentiation of MSCs. Of the materials tested (*brushite-hydroxyapatite cement, hydroxyapatite cement, tricalcium phosphate prepared from conversion of gypsum, tricalcium phosphate ceramic*), a greater degree of cell survival and proliferation was observed in case of culturing the cells in the presence of tricalcium phosphate ceramic (Fig. 3). The results of an investigation of the influence of tricalcium phosphate ceramic on osteogenic differentiation showed that this material additionally stimulates dexamethasone-induced osteogenic differentiation of the cells, as evidenced by the increased number of calcified nodules and increased extracellular matrix production (Fig. 4).

The data obtained suggest that the pulp of human deciduous teeth is a very efficient and easy accessible source for MSCs and the polymer-mineral scaffolds under development are promising cell carriers for the use in bone tissue engineering.

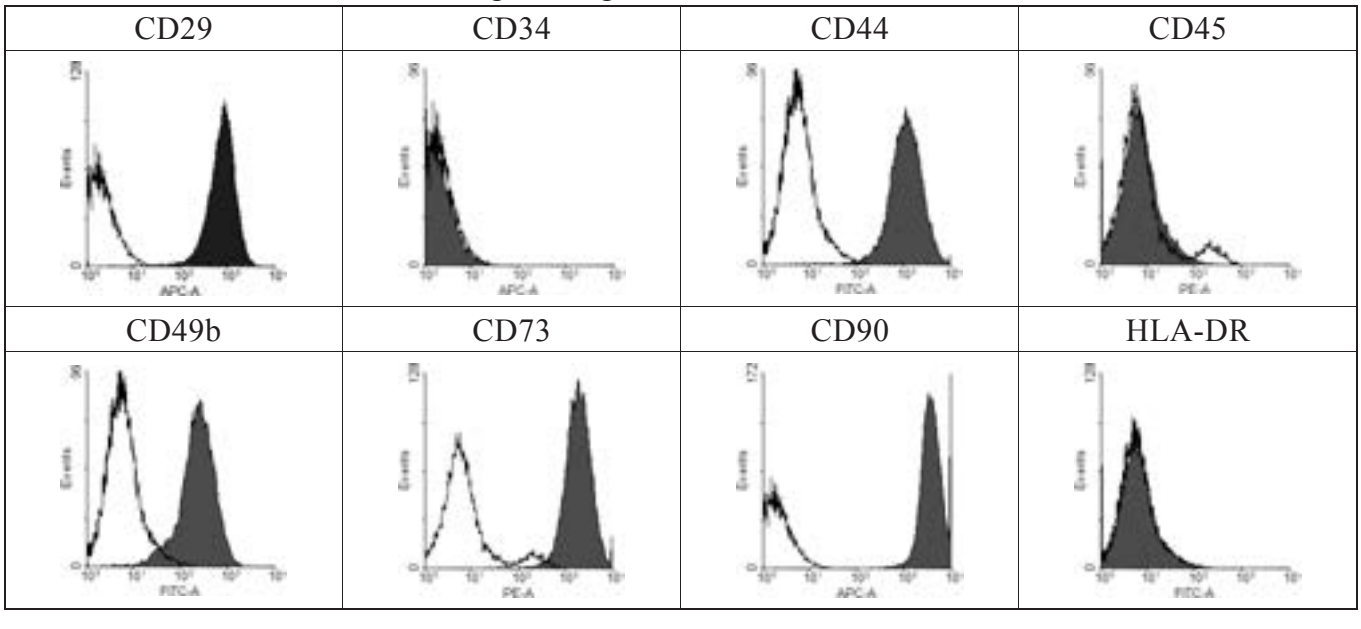
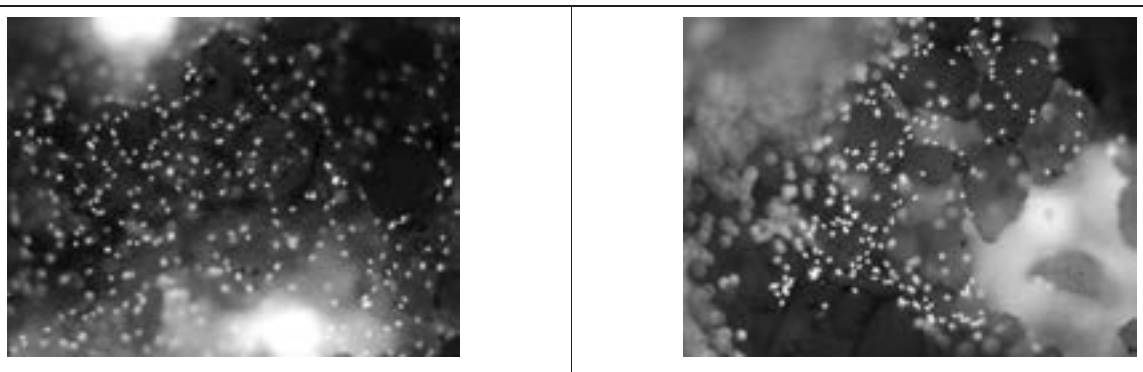


Рис. 1. Фенотипический профиль мезенхимальных клеток пульпы молочного зуба.

По оси абсцисс – интенсивность флуоресценции, отражающая уровень экспрессии поверхностного маркера; по оси ординат – количество регистрируемых событий (клеток). Изотипический контроль обозначен черной линией.

Fig. 1. Phenotypic profile of mesenchymal cells from deciduous tooth pulp.

The X-axis represents the fluorescence intensity that corresponds to the level of surface marker expression; the Y-axis shows the number of events (cells) counted. Isotype control is shown in black.



А (А)	Б (В)

Рис. 2. Мезенхимальные клетки пульпы молочного зуба, культивируемые на полилактогликолидныхскаффолдах, изготовленных по технологии ПСЛС

А – 8-е сутки; Б – 43-е сутки.Окраскаядер DAPI. Увеличение×100.

Fig. 2. Culture of mesenchymal cells from deciduous tooth pulp on the polylactoglycolide scaffold produced via SSLS.

A – at the 8th day; B – at the 43th day. DAPI-stainednuclei. Magnification ×100.

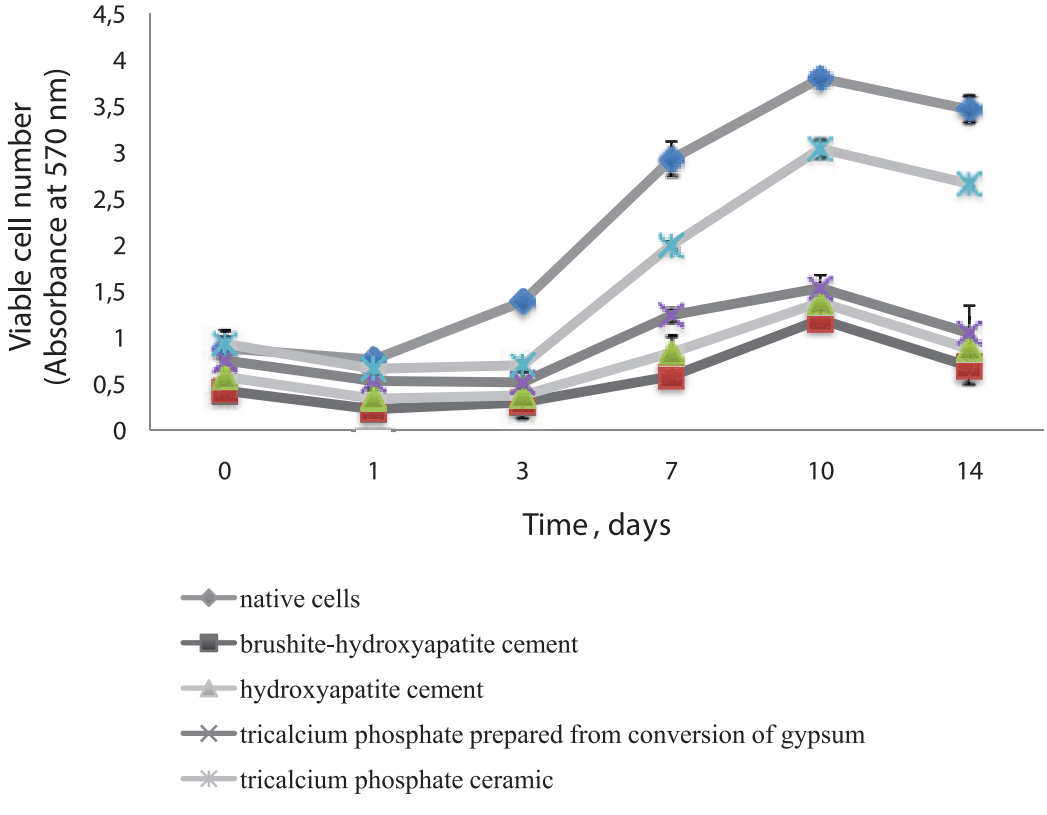
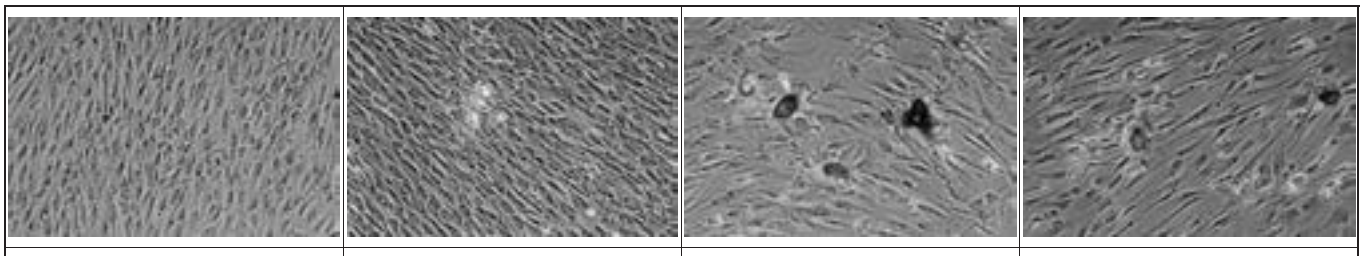


Рис. 3. Изменение количества жизнеспособных клеток в процессе их культивирования в присутствии различных фосфатов кальция.

Fig. 3. Changes in the number of viable cells during culture in the presence of different calcium phosphates.



А (А)	Б (В)	В (С)	Г (D)

Рис. 4. Накоплениефосфатовкальцияклетками в процессе остеогенной дифференцировки в присутствии трикальцийфосфатной керамики (ТКФК).

А – клетки, культивированные в ростовой среде, Б – клетки, культивированные с дексаметазоном, В – клетки, культивированные с дексаметазоном и ТКФК, Г – клетки, культивированные с добавлением ТКФК. Окраскаализариновымкрасным.Увеличение ×100.

Fig. 4. Accumulation of calcium phosphate in cells during osteogenic differentiation in the presence of tricalcium phosphate ceramic (TCPC).

A – cells cultured in growth medium; B – cells cultured in dexamethasone-supplemented medium; C – cells cultured in dexamethasone-supplemented medium in the presence of TCPC; D – cells cultured in the presence of TCPC. Alizarin red staining. Magnification ×100.

МОЛЕКУЛЫ КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ КАК БИОМАРКЕРЫ ПРОГНОЗА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В.

ГБУЗСО Институт медицинских клеточных технологий,

620036 г. Екатеринбург, ул. Соболева 25, тел.(343)3769828 e-mail: yulkat@bk.ru

Рак молочной железы (РМЖ) – самая распространенная злокачественная опухоль у женщин, ведущей причиной смерти которых являются метастазы в отдаленные органы. Своевременное выявление отдаленных метастазов и их локальная терапия могли бы изменить прогноз заболевания, способствовать увеличению срока выживаемости и улучшить качество жизни пациенток с РМЖ. Важной особенностью метастазирования является деформация адгезивных способностей опухолевых клеток, опосредованная изменением экспрессии молекул клеточной адгезии (МКА). Одной из наиболее значимых МКА в эпителиальных тканях является Е-кадерин. Определение уровня экспрессии Е-кадерина в опухоли, изучение сроков выживаемости и риска развития метастазов у пациентки может оказаться важным прогностическим фактором. Целью нашего исследования было изучение уровня экспрессии Е-кадерина при различных иммуногистохимических вариантах РМЖ. Исследуемую группу составили 45 случаев инвазивной карциномы молочной железы от пациенток, средний возраст которых составил 58,0±11,4 лет. Определение экспрессии Е-кадерина на клетках карциномы молочной железы проводили иммуногистохимическим методом в автостейнере “Dako” с помощью моноклональных антител Monoclonal Mouse Anti-Human E-cadherin Clone NCH-38 (Dako, Дания). Экспрессия Е-кадерина оценивалась как положительная при окрашивании ≥ 70% исследуемых клеток. Отсутствие экспрессии Е-кадерина обнаружено в 20% случаев, из которых 77,7% относились к люминальному варианту типа А и 22,3% к базальному типу согласно иммуногистохимической классификации РМЖ (Perou, Sorlie et al, 2003). Корреляции экспрессии Е-кадерина с экспрессией эстрогенового и прогестеронового рецепторов, индекса пролиферативной активности Ki 67, рецептора онкобелка Her2/neu, а также со стадией опухолевого процесса не обнаружено. Для определения роли изменения уровня экспрессии Е-кадерина как прогностического маркера высокого риска

развития отдаленных метастазов требуется проведение дальнейших исследований.

CELL ADHESION MOLECULES AS PROGNOSTIC BIOMARKERS OF BREAST CANCER

Zasadkevich Y.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V.
GBUZSO Institute of medical cell technologies,
620036, Soboleva str. 25, Ekaterinburg,
tel.+7(343)3769828 e-mail: yulkat@bk.ru

Breast cancer is the most spread malignant tumor in women. The main reason of death in such category of patients is metastases in distant sites. Early detection of the distant metastases and their local therapy could change the prognosis of the disease, increase survival and improve the life quality of patients with breast cancer. The important feature of metastasis is deformation of adhesive properties of tumor cells mediated by alteration of cell adhesion molecules (CAM) expression. One of the most significant CAM in epithelial tissues is E-cadherin. Evaluation of E-cadherin expression in tumor, examination of survival time and risk of development of metastases in a patient could be an important prognostic factor. The aim of our research was to study E-cadherin expression in different immunohistochemical types of breast cancer. The studied group included 45 cases of invasive breast carcinoma from women in average age 58.0±11.4 years. E-cadherin expression on breast carcinoma cells was determined by immunohistochemical method in autostainer "Dako" with monoclonal antibodies Monoclonal Mouse Anti-Human E-cadherin Clone NCH-38 (Dako, Denmark). E-cadherin expression evaluated as positive when ≥ 70% of studied cells were stained. Loss of E-cadherin expression was detected in 20% of all cases, in which 77.7% related to luminal A breast cancer and 22.3% related to basal-like breast cancer according to the immunohistochemical classification (Perou, Sorlie et al, 2003). A correlation between E-cadherin expression and estrogen and progesterone receptors expression, proliferative index Ki67 expression, oncoprotein receptor Her2/neu expression was not found. We did not find any correlation between E-cadherin expression and tumor stage as well. To clarify a role of alteration of E-cadherin expression as a prognostic marker of high risk of distant metastases development further research is required.

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ НАНОЧАСТИЦ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В МОДЕЛИ КОНТУЗИОННОЙ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС

Алексашкин А.Д.[1], Морозова А.Ю.[2], Мустафина Т.Б.[2], Чехонин В.П.[2], Клячко Н.Л.[1], Нуколова Н.В.[1,2], Кабанов А.В.[1,3]
[1]*МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Ленинские Горы, 1, стр. 3*
[2]*ГНЦССП имени В.П. Сербского, Москва, Кропоткинский пер., 23*
[3]*Университет Северной Каролины в Чапел Хилле (США), отделение генной медицины*

Многие травмы сопровождаются процессом воспаления. В ходе воспаления баланс между производством радикалов и их нейтрализацией нарушается. В этом случае эффективным может оказаться введение дополнительного количества антиоксидантов, в частности, антиоксидантных ферментов (каталаза или супероксиддисмутаза (СОД)). Однако, на практике терапия с использованием природных ферментов неэффективна, так как они нестабильны в организме. Целью нашей работы было создание и исследование на модели контузионной травмы спинного мозга (КТСМ) биологических свойств наноконтейнерных систем на основе СОД.

Синтез проводился путем простого смешивания растворов СОД и блок-сополимера (полилизин-полиэтиленгликоль) с последующей ковалентной сшивкой. Образцы были оха-

рактеризованы с помощью динамического светорассеяния (Zetasizer Nano ZS), электрофореза в денатурирующих условиях, МТТ-теста. Была определена активность получаемых частиц с использованием пирогаллола. Эксперименты *in vivo* проводились на крысах Wistar на модели КТСМ. Через полчаса после нанесения травмы внутривенно вводились наночастицы СОД (от 500 до 20 000 единиц активности на кг веса). Общий объем повреждения спинного мозга (воспаление и посттравматические кисты) оценивался методом магнитно-резонансной томографии. В результате проведенных экспериментов были получены стабильные активные наночастицы на основе СОД диаметром 40 нм. Размер повреждения спинного мозга через 20 суток после КТСМ при введении наночастиц СОД уменьшился в 2 раза по сравнению с нативным ферментом и в 3 раза по сравнению с контролем. Также была установлена зависимость эффекта от дозы введенного препарата. Она имела вид колокола с максимумом в районе 5 000 единиц на кг веса.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Министерства образования и науки 11G34.31.0004 от 30.11.2010 г.

SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF SUPEROXIDE DISMUTASE NANOPARTICLES USING MODEL OF SPINAL CORD INJURY IN RATS

Aleksashkin A.D.[1], **Morozova A.Yu.**[2], **Mustafina T.B.**[2], **Chekhonin V.P.**[2], **Klyachko N.L.**[1], **Nukolova N.V.**[1,2], **Kabanov A.V.**[1,3]
[1]*Lomonosov Moscow State University, Moscow, Lenin Hills 1, page 3*
[2]*The Serbsky State Scientific Center for Social and Forensic Psychiatry, Kropotkinskiy per., 23*
[3]*University of North Carolina at Chapel Hill, Genetic Medicine Building*

Usually injury accompanied by a process of inflammation. During inflammation the balance between the production of radicals and their neutralization them is broken. In this case, introduction of an additional amount of antioxidants may be effective, in particular, the antioxidant enzymes (catalase and superoxide dismutase (SOD)). However, in practice the use of natural enzymes is ineffective because of their instability. The purpose of our work was to develop the SOD nanoparticles and analyze their biological effects on model of spinal cord injury (SCI).

Synthesis was carried out by simple mixing of SOD solutions and block copolymer (polylysine-polyethylene glycol) followed by covalent cross-linking. The samples were characterized by dynamic light scattering (Zetasizer Nano ZS), electrophoresis under denaturing conditions, MTT assay. Specific activity was determined using pyrogallol assay. *In vivo* experiments were performed on Wistar rats using SCI model. SOD nanoparticles (from 500 to 20 000 units of activity per kg of body weight) were intravenously injected in 30 min after injury. The total volume of spinal cord injury (inflammation and traumatic cysts) was evaluated by magnetic resonance imaging. We developed the stable active SOD nanoparticles (diameter 40 ± 5 nm). MRI data suggested that 20 days after the treatment by SOD nanoparticles the volume of a spinal cord injury decreased 2-fold compared with the native enzyme and 3-fold compared with the control. Also the dose-administration relationship was established. Thus, we found the bell-shaped form with maximum around 5000 units per kg of body weight.

This work was supported by grant from the Ministry of Education and Science 11G34.31.0004 from 30.11.2010

НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА, СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ В-ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ

Асонова Е.И.[1], Сосенкова Л.С.[2,3], Егорова Е.М.[2,3]
[1]*ФГБУ высшего профессионального образования «Российский Химико-Технологический Университет им. Д.И. Менделеева»;*
[2]*НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН;*
[3]*Научно-производственная компания «Наномет», Москва, Россия*

Использование наночастиц металлов, в особенности золота и серебра, является перспективным направлением в биологии и медицине, и чем менее токсичными будут наночастицы, тем шире будет спектр их применения. Предполагается, что их малая токсичность может быть обеспечена путем синтеза с использованием природных восстановителей и стабилизаторов, не оказывающих вредного воздействия на организм человека и животных. В настоящей работе сообщается о получении наночастиц серебра восстановлением ионов серебра растительным пигментом кверцетином в водной среде с применением β-циклодестрина в качестве стабилизатора. Об использовании циклодекстринов для стабилизации различных наночастиц сообщалось в литературе (напр., [1]). β-циклодекстрин был выбран как наиболее доступный для исследований с целью применения наночастиц в медицинской диагностике и терапии. Контроль процесса формирования и стабильности наночастиц осуществлялся методом спектрофотометрии, контроль размеров частиц – методом просвечивающей электронной микроскопии.

На рис.1 показаны электронная микрофотография и гистограмма распределения по размерам наночастиц серебра, стабилизированных β-циклодекстринами.

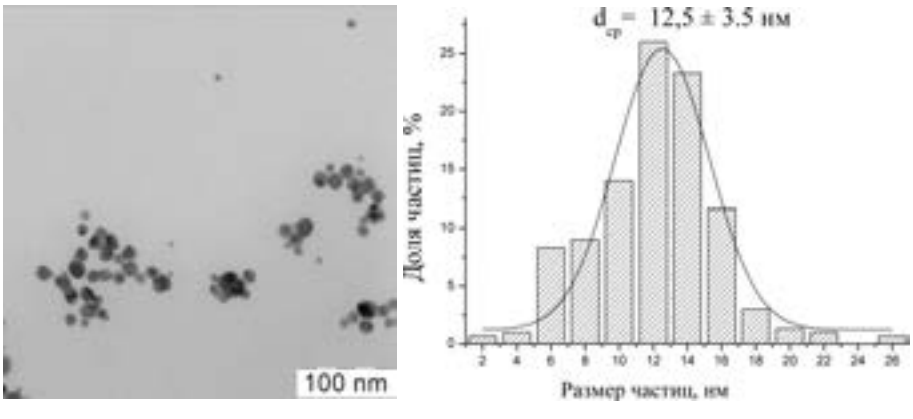


Рис. 1. Микрофотография и гистограмма распределения по размерам наночастиц серебра.

Как видно из рисунка, используемый стабилизатор позволяет получать наночастицы примерно сферической формы, средним размером $d_{ср}$= 12.5 ± 3.5 нм. Предполагается использовать такие наночастицы для разработки новых лекарственных препаратов

1. Y. Liu, Keith B. Male, P. Bouvrette, John H.T.Luong// Chem. Mater. 2003.15.

SILVER NANOPARTICLES STABILIZED BY B-CYCLODEXTRINS

Asonova E.I.[1], Sosenkova L.S.[2,3], Egorova E.M.[2,3]
[1]*D.I. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russian, Moscow;*
[2]*Institute of general pathology and pathophysiology, RAMS, Moscow, Russia;*
[3]*Science-technology Company "Nanomet", Moscow, Russia*

The use of metal nanoparticles, in particular gold and silver, is a promising direction in biology and medicine. It is clear that the less toxic are nanoparticles, the wider may be the range of their application. It is supposed that their low toxicity can be provided by using, in the process of synthesis,

natural reducing agents and stabilizers which exert no harmful effects on humans and animals.

In the present paper we report about the preparation of silver nanoparticles by the reduction of silver ions with plant pigment quercetin in the water medium, with β-cyclodextrin as stabilizer. The use of cyclodextrins for the stabilization of various nanoparticles was reported in literature (e.g. [1]). β-cyclodextrin was selected as the most available for the studies aimed to the nanoparticles application in medical diagnostics and therapy.

The process of nanoparticles formation and their stability was controlled by means of spectrophotometry. Particle sizes were determined by transmission electron microscopy. Figure 1 shows the electronic micrograph and size distribution histogram of silver nanoparticles stabilized by β-cyclodextrin.

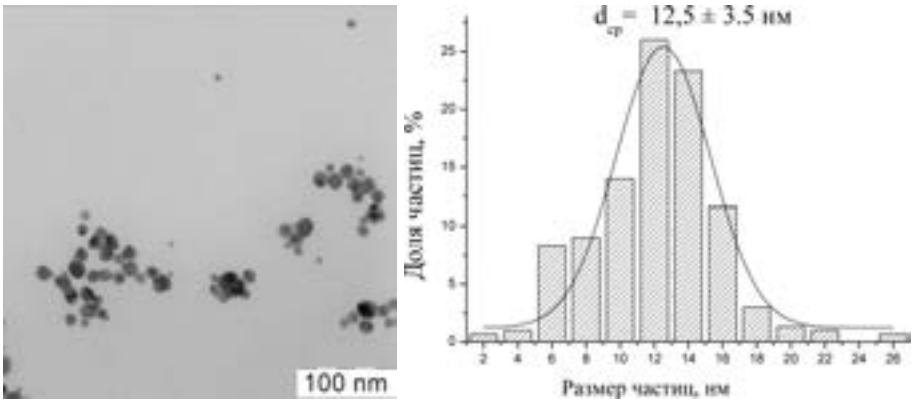


Fig. 1. Electron micrograph and size distribution of silver nanoparticles.

As seen from the figure, the stabilizer applied allows to obtain approximately spherical nanoparticles, with average size d_{av}= 12.5 ± 3.5 nm. It is assumed that the nanoparticles can be used for the creation of new medicines with antibacterial properties.

1. Y. Liu, Keith B. Male, P. Bouvrette, John H.T.Luong// Chem. Mater. 2003.15.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ СМЕСЕЙ РЕТИНОИДОВ

Беликов Н.Е.[1,2], **Ходонов А.А.**[1,2], **Демина О.В.**[1,2], **Карпова М.Ю.**[2], **Яковлева М.А.**[1], **Фельдман Т.Б.**[1], **M. Lindström**[3], **K. Donner**[4], **Островский М.А.**[1]

[1]*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, Москва, ул. Косыгина, 4, Россия*

[2]*Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, пр-т Вернадского, 86, Россия*

[3]*Tvärminne Zoological Station, University of Helsinki, Finland*

[4]*Department of Biosciences, University of Helsinki, Finland*

В данном исследовании был определен хромофор (ретиналь А1 или А2) зрительного пигмента двух популяций крилевых креветок *M. relicta*, обитающих в темной красно-коричневой воде торфяных озер и относительно хорошо освещенной зеленоватой воде Финского залива. Их преобладающие зрительные пигменты заметно отличаются по спектральному поглощению (350 нм для морской популяции и 566 нм для речной). Среди гипотез о механизме спектральных различий между зрительными пигментами разных популяций *M. relicta* нами была выделена гипотеза, предполагающая обратимые замены хромофоров зрительного пигмента: витаминов А1 и А2.

Для проверки данной гипотезы был отработан метод синтеза, выделения и очистки ретиналя А2, предложена процедура выделения экстрактов ретиноидов из препаратов глаз креветок, произведено исследование состава смесей ретиноидов из экстрактов глаз креветок методом аналитической ВЭЖХ с помощью синтезированных реперов – А1 и А2-ретиналей.

Было показано, что как в озерной популяции, так и в морской популяции креветок *M. relicta* экстракты смесей ретиноидов из зрительных пигментов не содержат следов *all-E*-3,4-дидегидроретиналя (А2). Таким образом, возможно сделать вывод, что процесс светоадаптации данного вида организмов не обусловлен обратимой заменой пигментов (А1 – А2).

Работа была частично поддержана грантом РФФИ для молодых ученых (проект 12-04-31190).

DEVELOPMENT OF CHROMATOGRAPHICAL SEPARATION METHOD FOR RETINOID MIXTURES

N.E. Belikov[1,2], A.A. Khodonov[1,2], O.V. Demina[1,2], M.Yu. Karpova[2], M.A. Yakovleva[1], T.B. Feldman[1], M. Lindström[3], K. Donner[4], M.A. Ostrovsky[1]

[1]*N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, 119334, Moscow, Kosygina 4, Russia*

[2]*M.V. Lomonosov State University of Fine Chemical Technologies, 119571, Moscow, Vernadskogo 86, Russia*

[3]*Tvärminne Zoological Station, University of Helsinki, Finland*

[4]*Department of Biosciences, University of Helsinki, Finland*

In present study we determined the chromophore identity (retinal A1 or A2) of the visual pigments of two populations of opossum shrimp (*M. relicta*) living deep in the dark, brown peat lake and in the relatively brightly lit, greenish water of Gulf of Finland. Their dominant visual pigments differ markedly in spectral absorbance (530 nm for sea population and 566 nm for lake population). Among hypotheses of mechanism of visual pigments' spectral differences of different populations of *M. relicta* we made an assumption that visual pigment chromophores – vitamins A1 and A2 - can reversibly interchange.

To verify this hypothesis we have perfected the method of synthesis, isolation and purification of retinal A2, proposed the procedure for extracting retinoids from shrimp eyes preparations, carried out the study of composition of retinoid mixes from shrimps eyes extracts by analytical HPLC with help of synthesized retinals A1 and A2.

It has been shown that retinoid mixes extracts from both sea and lake populations of *M. relicta* do not contain traces of *all-E*-3,4-didehydroretinal (A2). Thereby one can make a conclusion that the light adaption process of given species is not due to reversible pigment interchange (A1 – A2).

This work was partly supported by RFBR Grant for young scientists (project № 12-04-31190).

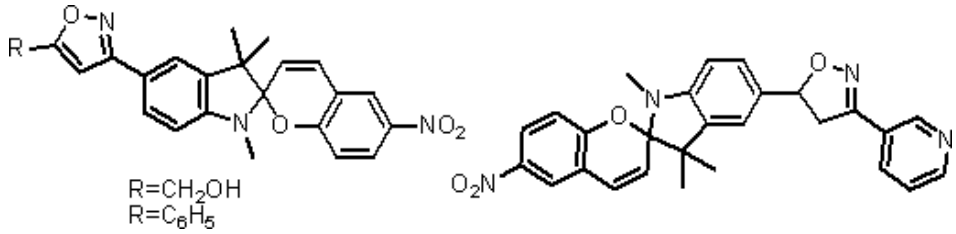
ФОТОХРОМНО-МЕЧЕННЫЕ ИНГИБИТОРЫ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА. СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ

Демина О.В.[1], **Беликов Н.Е.**[1,2], **Лаптев А.В.**[1,2], **Лукин А.Ю.**[2], **Швец В.И.**[2], **Варфоломеев С.Д.**[1], **Ходонов А.А.**[1,2]

[1]*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,*
119334, Москва, ул. Косыгина, 4, Россия
[2]*Московский государственный университет*
тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова,
119571, Москва, пр-т Вернадского, 86, Россия

Актуальным направлением нанофотоники является синтез молекул, обладающих фотохромными свойствами, для нужд биоорганической и медицинской химии, а также медицины. Молекулы, содержащие фотохромную метку, необходимы для исследования механизмов действия лекарственных средств, для изучения механизма действия ферментов и рецепторов, для направленного ингибирования злокачественных опухолей и разработки методик лечения ряда заболеваний.

Нами был выполнен синтез 3 веществ класса 3,5-замещенных изоксазолов и их 4,5-дигидропроизводных, содержащих фотохромный спиропирановый фрагмент по С3- или С5-положению изоксазольного кольца, необходимых для исследования механизма действия этого класса веществ. Спектрально-кинетические характеристики синтезированных веществ были исследованы в двух растворителях – толуоле и этаноле.



Работа была частично поддержана грантом РФФИ для молодых ученых (проект 12-04-31190), грантом Президента Российской Федерации для молодых ученых – кандидатов наук (проект № МК-6901.2013.4) и государственным контрактом № 16.740.11.0177 в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы».

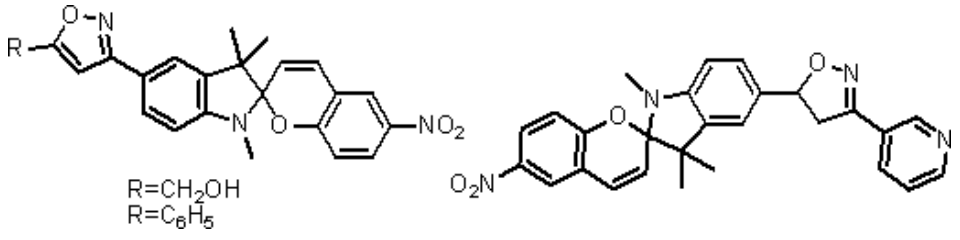
PHOTOCHROMIC LABELLED AGGREGATION INHIBITORS OF HUMAN PLASMA THROMBOCYTES. SYNTHESIS AND STUDY OF SPECTRAL PROPERTIES

O.V. Demina[1], **N.E. Belikov**[1,2], **A.V. Laptev**[1,2], **A.Yu. Lukin**[2], **V.I. Shvets**[2], **S.D. Varfolomeev**[1], **A.A. Khodonov**[1,2]

[1]*N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS,*
119334, Moscow, Kosygina 4, Russia
[2]*M.V. Lomonosov State University of Fine Chemical Technologies,*
119571, Moscow, Vernadskogo 86, Russia

The investigation of the regulation of ligand – receptor or ligand-enzyme interactions by the usage of organic compounds with photochromic labels on the subcellular or molecular levels is one of the significant tasks of bionanophotonics. The search of new effective variants of the direct regulation of the human hemostasis system definite stages is the important medicine problem, because the mortality from cardio-vascular diseases takes first place in the world.

It was shown by us that a number of 3,5-substituted isoxazoles were potent anti-aggregatory compounds [1,2]. A few 3,5-substituted isoxazole analogs contained photochromic label – spiropyran moiety at 3- or 5-position of isoxazole ring were synthesized by us for the determination of molecule pharmacophoric fragment detail structure and the investigation of the action mechanism of this class compounds. Spectral-kinetic properties of synthesized compounds were investigated in two solvents – ethanol and toluene.



This work was partly supported by RFBR Grant for young scientists (project № 12-04-31190), the Grant of President of the Russian Federation for Young Ph.D. Scientists (project No. МК-6901.2013.4), and the State Contract No. 16.740.11.0177 of FCP "Scientific and Scientific-Pedagogical Staff of Innovational Russia" 2009-2013.

НОВЫЙ ТИП ПОЛИАМИДНЫХ МИМЕТИКОВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ С ЗАДАННЫМИ СВОЙСТВАМИ: ПОДХОДЫ К КОНСТРУИРОВАНИЮ И ИЗУЧЕНИЮ СВОЙСТВ

Деженков А.В., Ширяева М.В., Кириллова Ю.Г.
Московский Государственный Университет
тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова,
119571 г. Москва, проспект Вернадского 86, e-mail: panam.mitht@gmail.com

Замена сахарофосфатного скелета на полиамидный привела к новому классу биологически активных соединений – полиамидным миметикам нуклеиновых кислот (ПАНКМ). Неприродная структура ПАНКМ полностью отвечает принципам молекулярного узнавания комплементарных мишеней и, в то же время, обеспечивает высокую биологическую устойчивость. Наша работа направлена на создание отрицательно заряженных (ОЗ) ПАНКМ путем введения карбоксиэтильного остатка в α- или γ-положение полиамидного скелета (Рис.1). Положение заместителя и конфигурация хирального центра будут определять закручивание спирали ОЗ ПАНКМ, и, следовательно, прочность и селективность связывания с нуклеиновыми кислотами. В свою очередь отрицательный заряд позволит устранить недостатки предыдущих аналогов, поскольку решит вопросы связанные с растворимостью и самоагрегацией. Также наличие отрицательного заряда в ПАНКМ будет способствовать расширению применений этих веществ *in vivo*, поскольку станет возможным использование катионных систем, разработанных для доставки природных нуклеиновых кислот в клетки.

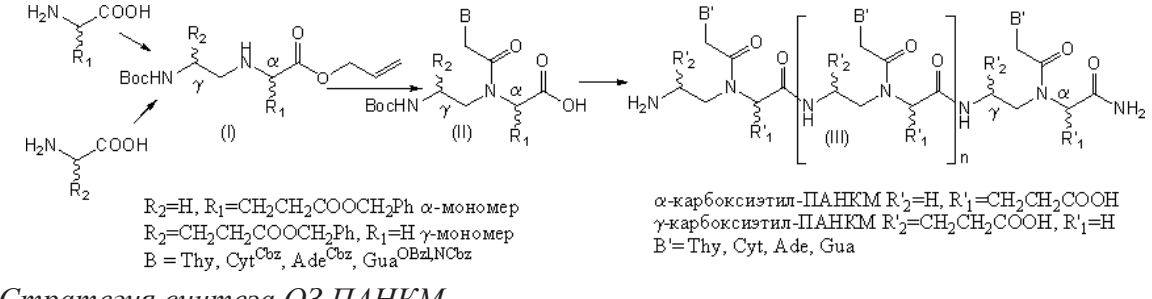


Рис.1. Стратегия синтеза ОЗ ПАНКМ.

Синтез ОЗ ПАНКМ (Рис.1) состоит из получения мономеров и дальнейшей олигомеризации их при помощи твердофазного синтеза. На данный момент нами разработаны и оптимизированы методы получения 8 мономеров ОЗ ПАНКМ (4 α-мономера и 4 γ-мономера) и разработан протокол олигомеризации мономеров на полимерном носителе.

NEW TYPE OF POLYAMIDE NUCLEIC ACIDS MIMICS WITH DETERMINED FEATURES: DESIGN AND PROPERTIES INVESTIGATION

Dezhenkov A.V., Shiryaeva M.V., Kirillova Yu.G.
Lomonosov Moscow State University of fine chemical technologies,
119571 Moscow, Vernadsky prospect 86, e-mail: panam.mitht@gmail.com

The replacement of sugar phosphate backbone with polyamide skeleton resulted to the new class of biological active compounds – polyamide nucleic acids mimics (PANAM). Unnatural structure of PANAM enables to molecular recognition of complementary targets and, at the same time, provides a high biological stability. Our work is directed on the creating of negatively charged (NG) PANAM by inserting of carboxyethyl residue to α- or γ-position of polyamide skeleton (Fig.1). The position of substitution and configuration of chiral centre will define the direction of helix forming and, therefore, the stability and selectivity of hybridization with nucleic acids. By turn the negative charge will allow to eliminate disadvantages of previous analogues so far as it will be solved problems related with solubility and self-aggregation. As well, the presence of negative charge in PANAM will facilitate to expanding of *in vivo* applying of these compounds so far as it will be enabled to use cationic systems developed for delivery of natural nucleic acids in cells.

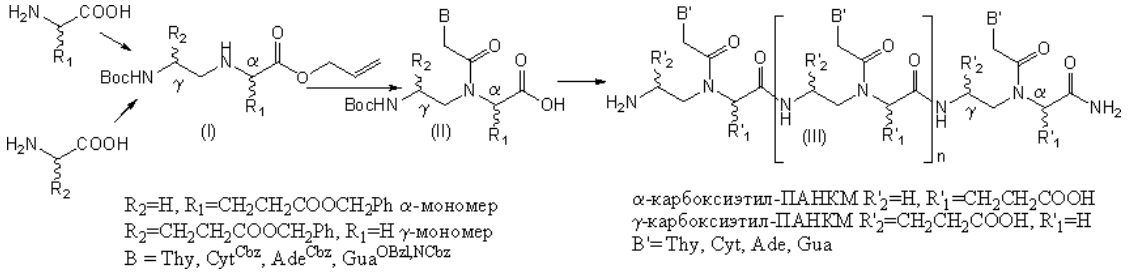


Fig.1. The strategy of NG PANAM synthesis.

The synthesis of NG PANAM (Fig.1) consists from the producing PANAM monomers and their oligomerization by solid phase synthesis. At this moment in time, we developed and optimized the synthesis methods of 8 monomers of NG PANAM (4 α-monomers and 4 γ-monomers) and the protocol of their oligomerization on the polymer support.

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ДИНУКЛЕОЗИДСОДЕРЖАЩИХ ЛИПОФИЛЬНЫХ КОНЪЮГАТОВ 3’-АЗИДО-3’-ДЕЗОКСИТИМИДИНА И 2’,3’-ДИДЕГИДРО-3’-ДЕЗОКСИТИМИДИНА НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПОЛИОЛОВ

Дьякова Л.Н., Шастина Н.С.
Московский Государственный Университет
Тонких Химических Технологий им. М.В. Ломоносова,
119571, Москва, просп. Вернадского, 86

3’-Азидо-3’-дезокситимидин (AZT) и 2’,3’-дидегидро-3’-дезокситимидин (d4T) являются первыми одобренными нуклеозидными ингибиторами обратной транскриптазы ВИЧ, которые

в своих активных трифосфатных формах ингибируют действие данного фермента, терминируя элонгацию провирусной ДНК. Несмотря на их положительный клинический эффект данные агенты имеют существенные недостатки: деградируют в кислой среде желудка, подвергаются первичному метаболизму в печени, из-за своей гидрофильной природы обладают слабым всасыванием в кишечнике и низкой пероральной биодоступностью, а также длительное применение нуклеозидных препаратов приводит к накоплению токсичности и формированию резистентных вирусных штаммов.

Для преодоления данных недостатков был предложен подход, основанный на моделировании оптимального пролекарственного препарата, обеспечивающего доставку AZT и d4T к клеткам-мишеням в составе глицеролипидного конъюгата, стабильного в течение всего транспорта, но быстро деградирующего под действием клеточных ферментов с высвобождением активного соединения. В рамках данного подхода были разработаны и осуществлены синтезы динуклеозид-содержащих глицеролипидных производных d4T и AZT. Такие конъюгаты обладают большей мембранотропностью, чем исходные нуклеозиды, способны имитировать пути метаболизма природных триглицеридов и, следовательно, транспортироваться к клеткам-мишеням по лимфатической системе, в обход первичного метаболизма в печени, что приведет к повышению биодоступности активных агентов. Была изучена чувствительность полученных конъюгатов к действию химического и ферментативного гидролиза в условиях *in vitro*, исследована противовирусная активность в отношении штамма ВИЧ-1_{899A}.

SYNTHESIS AND PROPERTIES STUDING OF LIPOPHILIC DINUCLEOSIDE CONJUGATES OF 3'-AZIDO-3'-DEOXYTHYMIDINE AND 2',3'-DIDEHYDRO-3'-DEOXYTHYMIDINE BASED ON MODIFICATED POLYOLS

D'yakova L.N., Shastina N.S.
Lomonosov State University of Fine Chemical Technologies,
Pr. Vernadskogo 86, Moscow, 119571 Russia

3'-Azido-3'-deoxythymidine (AZT) and 2',3'-didehydro-3'-deoxythymidine (d4T) are the first approved nucleoside reverse transcriptase inhibitors, which active triphosphates inhibit the effect of given enzyme terminating *pro*viral DNA elongation. Despite their positive clinical effect these agents have essential disadvantages: they degradate in the acidic medium of the stomach, undergo first-pass hepatic metabolism, due to their hydrophilic nature possess low intestinal permeability and poor oral bioavailability, also long term use of these nucleoside drugs result in toxicity accumulation and development of drug resistant viral strains.

Approach based on design of optimal prodrugs providing delivery of AZT and d4T incorporated into glycerolipidic conjugate stable during all transport to target cells but fast degradating by cell enzymes with following release of active drug was proposed to overcome these disadvantages. Within the framework of present approach we developed and carried out the syntheses of dinucleoside glycerolipidic derivatives of d4T and AZT. Given conjugates are more membranotropic than parent nucleosides, able to imitate natural triglycerides metabolism, and hence are able to be delivered to target cells by enterocyte mediated way bypassing first-pass hepatic metabolism, which result in inhancing bioavailability of active agents.

Sensitivity of obtained conjugates to the chemical and enzymatic hydrolysis *in vitro* was determined, antiviral activity in relation to HIV-1_{899A} strain was investigated.

ПОЛУЧЕНИЕ ГЕЛЕОБРАЗНЫХ НАНОЧАСТИЦ «ЯДРО-ОБОЛОЧКА» НА ОСНОВЕ НИЗКОАЦЕТИЛИРОВАННОГО ХИТОЗАНА И ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ

Феоктистова Н.А., Мартиросова Е.И., Мрачковская Т.А., Плащина И.Г.
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334 Москва, ул. Косыгина,4, e-mail: igplashchina@yahoo.com

Разработан универсальный способ получения наночастиц, имеющих строение «ядро-оболочка» для инкапсулирования липофильных соединений (лекарственных средств, нутрицевтиков и др.) на основе хитозана с низкой степенью ацетилирования и ряда глобулярных белков (лизоцима куриного яйца, овальбумина и легумина кормовых бобов Vicia Faba). Метод заключается в получении на первой стадии процесса жидких частиц заданного состава, строения и размера, содержащих в качестве ядра белок, а в качестве внешнего слоя – хитозан; на второй стадии – в переводе частиц в состояние термотропного комплексного геля. Термотропный гель белка, вследствие развитой гидрофобной поверхности, обеспечивает эффективное взаимодействие с липофильными лигандами. Наличие сетки достаточно устойчивых связей позволяет отказаться от процедуры сшивания частиц химическими реагентами. Хитозановый внешний слой обеспечивает дополнительную стабилизацию частиц и их высокую диспергируемость в водно-солевой среде за счет избыточного поверхностного заряда.

На основе исследования закономерностей комплексообразования и ассоциативного фазового разделения в смешанных растворах овальбумин-хитозан и легумин Vicia Faba-хитозан в зависимости от pH, ионной силы и отношения концентраций макрокомпонентов, оптимизирован процесс получения частиц фазы комплексных коацерватов в качестве первой стадии процесса. Для системы лизоцим-хитозан первой ступенью процесса формирования частиц являлось «непродуктивное», т.е. не сопровождающееся ферментативным гидролизом хитозана, специфическое связывание. Необходимо заметить, что критическим условием связывания являлось значение ионной силы (0,15M NaCl). На второй стадии процесса термотропное гелеобразование (20-30 мин при температуре выше температуры денатурации белка) для всех трех систем приводило к получению однородных сферических частиц (Dh ≈ 200-300 нм, PDI =0,1), стабильных в процессе хранения, также как и к изменению pH и концентрации NaCl. Для исследования процессов формирования и свойств частиц использовали методы динамического светорассеяния и электрофореза Доплера, турбидиметрического титрования, фазового анализа, флюоресцентной спектроскопии, ротационной вискозиметрии, адиабатной дифференциальной сканирующей микрокалориметрии. В качестве соединения, позволяющего моделировать электростатические и гидрофобные взаимодействия при нагружении частиц в зависимости от pH использовали ибупрофен.

CREATION OF GEL LIKE “CORE-SHELL” NANOPARTICLES ON THE BASE OF LOW ACETYLATED CHITOSAN AND SOME GLOBULAR PROTEINS

Feoktistova N.A., Martirosova E.I., Mrachkovskaya T.A., Plashchina I.G.
N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS
119334 Moscow, Kosygin Str., 4 e-mail: igplashchina@yahoo.com

An universal method has been developed for obtaining gel like “core-shell” nanoparticles on the base of low acetylated chitosan and some globular proteins (hen egg white lysozyme, ovalbumin, legumin Vicia Faba) for incapsulation of hydrophobic compounds (drugs, nutriceuticals and others). The method involves on the first stage of process preparing of liquid particles with demanded composition and size containing a globular protein as a core, and chitosan as a shell. On the second stage

the particles must be converted to thermothropic complex gels. Thermothropic protein gels provides effective interactions with hydrophobic ligands due to the developed inner hydrophobic surface. The existence of the net of sufficient strong links allows to exclude the process of binding with using of chemical agents. Chitosan shell provides an additional particles stability and their high dispersibility in aqueous-salt medium.

On the base of study of complex formation and associative phase separation regularities in mixed ovalbumin-chitosan and legumin Vicia Faba-chitosan solutions in dependence on pH, ionic strength and macrocomponents ratio, the process of preparing of complex coacervate phase particles was optimized as the first stage of the process. For the system lysozyme-chitosan a "nonproductive", namely is not following by enzymatic chitosan hydrolysis, specific binding was used as the first stage of particle formation process. It is necessary to note that the ionic strength value (0.15M NaCl) has a crucial value. On the second stage in all three systems the thermothropic gel formation (20-30 min at temperature higher than temperature of helix-coil transition) results in to production of the homogeneous spherical particles (Dh ≈ 200-300 нм, PDI =0,1), which stay stable against long-term storage, as well as pH and NaCl concentration. For study of particle formation and properties the methods of dynamic light scattering, Doppler electrophoresis, turbidimetric titration, phase analysis, fluorescent spectroscopy, rotation viscosimetry and adiabatic scanning differential microcalorimetry were used. Ibuprofen has been used as a model compound to study the electrostatic and hydrophobic interactions with these nanogels at different pH values.

ГИДРОФИЛЬНЫЕ КВАНТОВЫЕ ТОЧКИ: СИНТЕЗ И ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ БИОМЕТОК

Гофтман В.В., Сперанская Е.С.
Саратовский Государственный Университет им. Н.Г. Чернышевского,
410012 г. Саратов ул. Астраханская, 83

Современной прикладной науке требуются стабильные, яркие флуоресцентные метки с различными цветами свечения. В настоящее время классические органические флуорофоры уходят на второй план, уступая наноразмерным меткам по всем параметрам. Наиболее перспективными флуоресцентными метками на сегодняшний день являются квантовые точки (КТ).

В связи с этим, перед нами стояла задача получения КТ с разным цветом свечения и модификации поверхности КТ для дальнейшего их использования в биоанализе. Была разработана методика высокотемпературного синтеза КТ на основе CdSe, покрытых слоями CdS и ZnS, в инертном высококипящем органическом растворителе. Полученные гетерогенные структуры заключали в оболочки амфифильного полимера, благодаря которым КТ приобретали гидрофильные свойства, а также получали функциональные группы, необходимые для дальнейшей конъюгации биометок. Полученные биометки на основе КТ были использованы в иммунохимических методах определения микотоксина *зеарленона.* В частности, было проведено сравнение чувствительности методов твердофазного иммунохимического анализа при использовании полученных флуоресцентных меток (FLISA) с классической для иммуноанализа ферментной меткой (ELISA). Предел обнаружения метода снижался в 2,5 раза при использовании синтезированной флуоресцентной метки (рис.1).

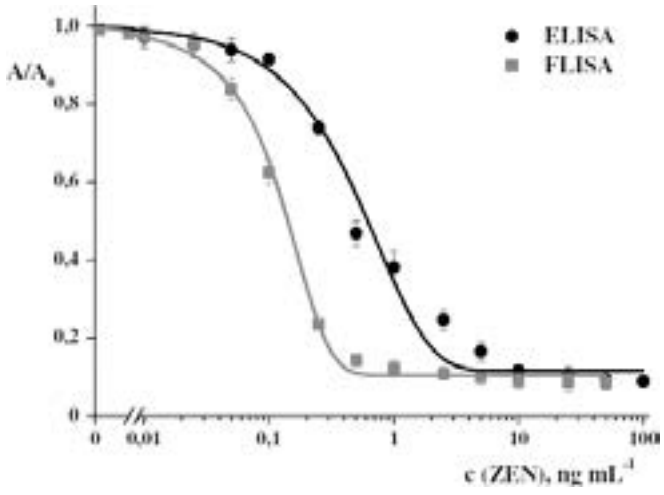


Рис. 1. Калибровочные кривые определения зеарленона с помощью ELISA и FLISA

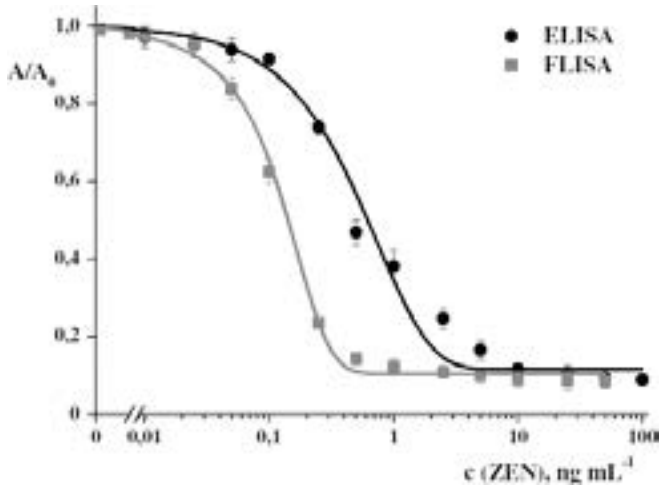
Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 12-03-91167-ГФЕН_а).

WATER SOLUBLE QUANTUM DOTS: PREPARATION AND USAGE AS A BIOLABELS

Goftman V.V., Speranskaya E.S.
Saratov State University named N.G. Chernyshevsky,
410012 Saratov Astrakhanskaya str., 83

Today stable and bright fluorescent biolabels with different colors of fluorescence are necessary for applied sciences. Semiconductor quantum dots (QDs) are became popular as fluorescent biolabels due to their unique optical properties.

The aims of our work were preparation of QDs with different colors of fluorescence and modification of their surfaces for further usage in bio analysis. Method of CdSe QD's preparing via a rapid hot-injection method was developed. Several wider band gap semiconductors (ZnS, CdS) were used as shell materials. The obtained core/shell particles were transferred to water solutions using amphiphilic polymers coating. This polymer's shells are also allowed to conjugates QDs with different biomolecules via functional groups.



Obtained QD's biolabels were used in immunochemical detection of mycotoxin *zearlenon.* A comparison of the FLISA (fluorescent-labeled immunosorbent assay) and ELISA (enzyme linked immu-

nosorbent assay) analytical parameters is presented in Fig. 1. The use of QDs as a label in competitive immunosorbent assay led to a significant decrease of the method's limit of detection (in 2.5 times).

The research was supported by a grant from RFBR (project 12-03-91167-GFEN-a).

СПОСОБ ИММОБИЛИЗАЦИИ АНТИТЕЛ НА ПОВЕРХНОСТИ МАГНЕТОСОМ

Груздев Д.С.[1,2], Дзюба М.В.[2]

[1]*Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет, 119991, Россия, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12*

[2]*Центр «Биоинженерия» РАН, 117312 Россия, Москва, пр-т 60-летия Октября д.7, корп.1*

Многочисленные применения синтетических и биогенных магнитных наночастиц в диагностике, магнитной сепарации стволовых клеток, в качестве носителя для направленной доставки лекарственных средств, требуют иммобилизации антител на их поверхности. Обычно это достигается путем химической сшивки, которая имеет ряд недостатков, таких, как низкая эффективность и случайная ориентация антител. В нашей работе мы описываем новую стратегию для иммобилизации антител на поверхности бактериальных биогенных магнитных наночастиц (магнетосом). Бактериальные магнетосомы представляют собой наноразмерные однодоменные кристаллы магнетита или грейгита, окруженные липопротеиновой мембраной. Объектом модификации являлись магнетосомы магнитотактической бактерии *Magnetospirillum* sp. SO-1 [1]. Одним из возможных подходов к иммобилизации на поверхности магнитных наночастиц антител является использование биологических линкеров с высоким сродством к IgG, таких как домены белка А *Staphilococcus aureus*. Наличие липопротеиновой мембраны позволяет встраивать гибридные иммуноглобулинсвязывающие белки *in vitro*. Ранее нами был синтезирован гибридный белок Mbb, состоящий из белка мембраны магнетосом Mam12 и двух доменов В белка А *S. aureus* и показана его иммуноглобулинсвязывающая активность [2]. В других исследованиях [3] была показана возможность эффективной интеграции гибридных белков в мембрану магнетосом при помощи ультразвуковой обработки в присутствии неионного детергента. В нашей работе мы предлагаем новый метод для интеграции белка, позволяющий избежать возможного разрушения мембраны магнетосом. Максимальное встраивание гибридного белка Mbb, достигаемое за счет гидрофобных взаимодействий между мембраной магнетосом и белка Mam12, происходило при кратковременном перемешивании суспензии магнетосом в растворе белка при низкой температуре, в присутствии 100 мМ NaCl, при pH=5.0. По результатам ИФА показано, что модифицированные магнетосомы эффективно связывают антитела по Fc-фрагменту, и могут быть использованы в различных областях медицины и диагностики.

1. *Дзюба М.В.*// Сборник материалов научно-практической конференции «Фармацевтические и медицинские биотехнологии». Москва, 20–22 марта 2012 г.
2. *Д.С. Груздев, М.В. Дзюба, А.С. Герасимов, Б.Б. Кузнецов.*// ПБМ, 2013, 49 (3), в печати.
3. *Matsunaga T, Arakaki A, Takahoko M.* // Biotechnol bioeng. 2002, 77:714-618

METHOD OF IMMOBILISATION OF ANTIBODIES ON THE SURFACE OF MAGNETOSOMES

Grouzdev D.S.[1,2],Dziuba M.V.[2]
Lomonosov Moscow State University·Faculty of biology
Centre "Bioengineering",RAS,Moscow,Russia,
Prospect 60-letia Oktyabrya7/1

Numerous applications of conventional and biogenic magnetic nanoparticles, such as diagnostics, magnetic separation of stem cells, targeted delivery of drugs, require the immobilization of antibodies on the surface of particles. This is usually accomplished by chemical conjugation, which, however, possesses several disadvantages, such as poor efficiency and the stochastic orientation of the antibodies. In this paper, we describe a new strategy for displaying antibodies on the surface of bacterial magnetic nanoparticles (magnetosomes). Bacterial magnetosomes are nanoscale single-domain magnetite crystals or greigite surrounded by lipoprotein membrane.

The magnetosomes of magnetotactic bacteria *Magnetospirillum* sp. SO-1 [1] were the object of modification . One possible approach to the immobilization on the surface of magnetic nanoparticles of antibodies is the use of high affinity linkers for IgG, such as *Staphilococcus aureus* protein A doubled domains . The presence of lipoprotein membrane allows integrating into membrane the immunoglobulin-binding hybrid proteins *in vitro*. Earlier, we synthesized fusion protein Mbb, consisting of a magnetosome membrane Mam12 protein and two B domains of *S. aureus* protein A.

The immunoglobulin-binding activity of inserted protein was demonstrated [2]. In other studies, the possibility of the effective integration of fusion protein in magnetosome membrane by sonication in the presence of non-ionic detergent was demonstrated [3]. In this paper, we offer a new approach for the integration of the protein, thus avoiding the possible collapse of the magnetosome membrane. Maximum insertion of fusion protein Mbb was achieved through hydrophobic interactions between the membrane and Mam12 magnetosome protein, as a result of short-time stirring of the mixture of fusion protein with magnetosomes at low temperature in the presence of 100 mM NaCl, at pH = 5.0. According to the ELISA data, the modified magnetosomes effectively bind antibodies to Fc-fragment, and could be used in various medical and diagnostic applications.

1. Дзюба М.В.// Book of abstracts "Pharmaceutical and Medical Biotechnology" confetrence, Moscow, 20-22 March 2012
2. D.S. Grouzdev, M.V. Dziuba, A.S. Gerasimov, B.B. Kuznetsov// Appl. Biochem. Microbiol., 2013, 49 (3), в печати.
3. Matsunaga T, Arakaki A, Takahoko M. // Biotechnol bioeng. 2002, 77:614-618

НОВЫЙ КЛАСС ИНЪЕКЦИОННЫХ ВНУТРИСУСТАВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ВИТАМИНАМИ И АМИНОКИСЛОТАМИ МЕТОДОМ ТВЕРДОФАЗНОГО РЕАКЦИОННОГО СМЕШЕНИЯ

Иванов П.Л.[1,2], Успенский С.А.[1], Селянин М.А.[1], Хабаров В.Н.[1]
[1]*АНО «Международный научно-исследовательский центр инновационных технологий МАРТИНЕКС»,*
111123, г. Москва, ул. 2-я Владимирская, д. 12, корп. 3
[2]*ФГБУН Институт синтетических полимерных материалов РАН им. Н.С. Ениколопова,*
117393, Москва, ул. Профсоюзная, д. 70.

В данной работе анализируются экспериментальные данные полученного методом твердофазного реакционного смешения комплекса на основе гиалуроновой кислоты (ГК), модифици-

рованной аскорбиновой кислотой (АК) и аминокислотами.

Количественный анализ продуктов реакции поводили с помощью ИК-Фурье спектрометрии. В ИК-спектрах исследуемых образцов полностью отсутствуют характеристические полосы глицидиловых групп сшивающего агента (750-950 см$^{-1}$) и появляются дополнительные полосы (1050-1150 см$^{-1}$), характерные для эфирных групп сшивающего агента с гидроксильными группами ГК и АК. Наличие АК и ее производных определяли по характеристическим полосам (1610 - 1630 и 1720-1750 см$^{-1}$) в ИК-спектрах.

После твердотельной прививки на ГК АК и при её последующем растворении в воде конформация полисахаридной цепи приобретает более упорядоченную вторичную структуру. Это приводит к тому, что при добавлении к такому раствору различных компонентов, таких как аминокислоты, связь последних с ГК дополнительно усиливается ещё и за счет биоспецифического гидрофобного взаимодействия. Выделенные из водных экстрактов АК, лизина, пролина, глицина и их производных, не вступившие в реакцию с ГК, составляли 1-5 масс% от исходного количества, что соответствует 95–99% выходу модифицированной ГК.

Твердофазная модификация ГК с витамином С и биоактивными добавками позволила решить задачу адресной доставки ключевых метаболитов к местам патологии и создания депо комплекса для восстановления матрикса хрящевой и соединительной ткани.

A NEW CLASS OF INTRA-ARTICULAR INJECTIONS BASED ON HYALURONIC ACID MODIFIED WITH VITAMINS AND AMINO ACIDS OBTAINED USING SOLID-STATE REACTIVE BLENDING.

Ivanov P.L.[1,2], **Uspenskii S.A.**[1], **Selyanin M.A.**[1], **Khabarov V.N.**[1]
[1]*Martinex International Research Centre, Russia*
[2]*EnikolopovInstitute of Synthetic Polymeric Materials of Russian Academy of Sciences*

The following work is an analysis of experimental data collected by investigating the properties of a complex based on hyaluronic acid (HA), modified ascorbic acid (AA) and amino acids obtained through a method of solid-state reactive blending.

Quantitative analysis of the reaction's products was conducted using IR Fourier spectroscopy. The IR spectrums of the sampled compounds completely lacked the characteristic stripes of glycidyl groups of the crosslinking agent (750-950 cm^{-1}). Instead additional stripes were observed at 1050-1150 cm^{-1}which is characteristic of the ether groups of the crosslinking agentwith hydroxyl groups of HA and AA. The presence of AA and its derivatives was confirmed by observing stripes in the IR spectrums at 1610-1630 and 1720-1750 cm^{-1}.

Following the solid-state linking of AA to HA and its consecutive dissolution in water, the conformation of the polysaccharide chain attained a more orderly secondary structure. When components such as amino acids were added to this solution, their link to HA became stronger due to biospecific hydrophobic interactions. AA, lysine, proline, glycine, and their derivatives that did not react with the hyaluronic acid were extracted from the aqueous solution. The extracted compounds totaled 1 to 5% of the original mass, which corresponds to a 95-99% yield of modified HA.

Solid-state modification of HA with vitamin C and bioactive additives solves the problem of pinpoint delivery of key metabolites to target areas and creation of a depot complex for restoration of cartilage and connective tissue matrix.

АДРЕСНЫЕ МОДУЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ГЕПАТОЦИТЫ

Иванова Е.А.[1], **Маслов М.А.**[1], **Чупин В.В.**[1,2], **Морозова Н.Г.**[1]
[1]*Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова, 119571, Москва, проспект Вернадского, 86*
[2]*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10*

Одной из проблем генной терапии является разработка стабильных, безопасных невирусных систем доставки терапевтических нуклеиновых кислот (НК) в клетки-мишени. В настоящее время перспективными невирусными векторами для доставки НК являются модульные липидные транспортные системы (МЛТС), представляющие собой самособирающиеся транспортные контейнеры, построенные из ковалентно несвязанных друг с другом липофильных модулей, и «запрограммированные» на преодоление различных биологических барьеров. Известно, что генетические нарушения клеток печени приводят к таким заболеваниям, как гемофилия, гиперхолестеринемия, рак печени. Направленную доставку терапевтических НК в этот орган можно осуществить с помощью МЛТС, содержащих катионный амфифил для компактизации и защиты НК, нейтральный липид-хэлпер для эффективного высвобождения из эндосом и галактозосодержащий гликолипид для нацеливания на асиалогликопротеиновые рецепторы гепатоцитов. Нами создана библиотека нейтральных неогалактолипидов линейной и разветвленной структуры, различающихся типом гидрофобных доменов (дитетрадецилглицерин и холестерин), линкерными (карбамоильные, амидные или сложноэфирные) и спейсерными группами (гексаметиленовые и олигоэтиленгликолевые). Для формирования разветвленной структуры неогалактолипидов в качестве матриц использовали Lглутаминовую кислоту, 1,3диаминопропан-2-ол и спермин. С использованием новых неогалактолипидов были получены адресные МЛТС и изучена их способность агглютинировать в присутствии галектина RCA_{120}. Показано, что полученные адресные МЛТС обладают функцией нацеливания и являются перспективными системами доставки НК для дальнейших биологических исследований *in vivo*.

TARGETED MODULAR LIPID TRANSPORT SYSTEMS FOR NUCLEIC ACID DELIVERY INTO HEPATOCYTES

Ivanova E.A.1, **Maslov M.A.**[1], **Chupin V.V.**[1,2], **Morozova N.G.**[1]
[1]*Lomonosov Moscow University of Fine Chemical Technology, 119571, Moscow, Vernadsky Prospect 86*
[2]*M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of bioorganic chemistry of the Russian Academy of Sciences, 117997, Moscow, GSP-7, Ul. Miklukho-Maklaya, 16/10*

One of the challenges of gene therapy is to develop a stable and safety non-viral delivery systems for transport of therapeutic nucleic acids (NA) into the target cells. Currently one of the promising non-viral vectors are modular self-assembling lipid transport systems (MLTS), which are composed of different lipophilic modules and “programmed” to overcome various biological barriers. It is well-known that genetic disorders of the liver cells lead to serious diseases such as hemophilia, hypercholesterolemia, cancer and etc. Targeted delivery of NAs into this organ can be achieved by means of MLTS formulated from cationic amphiphile condensing and protecting of NA, neutral lipid-helper to

enhance the endosomal escape of NA and neogalactolipids for targeting NA delivery. We have developed a library of neutral neogalactolipids with linear and branched structures differing with types of hydrophobic domains (1,2-di-O-tetradecyl-*rac*-glycerol and cholesterol), linker (carbamoyl, amide or ester bonds) and spacer groups (hexamethylene and oligoethylenglycole moieties). To construct branched neoglycolipids core molecules such as L-glutamic acid, 1,3-diaminopropane-2-ol and spermine were used. Novel neogalactolipids have been used for elaboration of new MLTS for NAs delivery into hepatocytes. We have investigated their specific binding with galactose-recognizing lectin RCA_{120} and shown that these MLTS displayed great targeting functions and could be considered as promising NA transport systems for further *in vivo* investigations.

САЙТЫ СВЯЗЫВАНИЯ MIRNA С MRNA ГЕНОВ ОНКОСУПРЕССОРОВ

Берилло О.А., Байдильдинова Г.К., Молдагалиева А.Г.и Иващенко А.Т.
Национальная нанотехнологическая лаборатория,
Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы

Онкосупрессоры контролируют клеточную пролиферацию и некоторые из них участвуют в апоптозе, клеточном цикле и играют ключевую роль в развитии рака. Экспрессия генов онкосупрессоров может быть снижена посредством взаимодействия с miRNA. MiRNAs являются короткими RNA с длиной 17 - 26 нуклеотидов, которые способствуют подавлению трансляции. Концентрация некоторых miRNA значительно изменяется в биологических жидкостях при развитии рака. Эти изменения могут действовать как сигнал для злокачественного перерождения клеток. Поэтому важно найти специфические miRNA, связывающиеся с mRNA онкосупрессоров. Сайты связывания 2036 miRNA найдены в 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNAs 828 генов онкосупрессоров. Только 1335 из 2036 miRNA являются регуляторами трансляции mRNA: 3935 сайтов связывания с miRNA расположены в CDS, 1828 – в 5'UTR и 3017 - в 3'UTR. Некоторые miRNA могут снижать экспрессию многих генов онкосупрессоров. Например, miR-4447 имеет 215 сайтов связывания с 170 mRNA: 135 сайтов в CDS, 38 - в 3'UTR и 42 - в 5'UTR. Некоторые miRNA могут связываться с одной mRNA в нескольких местах: 26 miRNA имеют по три сайта связывания с каждой mRNA из 33 генов. Например, miR-4447 имеет три сайта связывания в CDS mRNA генов BAI1, CREBBP, CUX1, ERAS1, GLTSCR1, HIPK2, MN1 и SCRIB. miR-4447 кодируется в интроне LSAMP гена. Интронные miRNA экспрессируются совместно с их генами, кодирующими предшественников miRNA. Эти miRNA обеспечивают связь между генами-хозяинами и генами-мишенями посредством интронных miRNA. Изменения в экспрессии генов-хозяинов приводят к изменениям экспрессии интронных miRNA, что влияет на трансляцию их mRNA генов мишеней. Экспрессия 170 генов онкосупрессоров зависит от экспрессии гена LSAMP и его интронной miR-4447. Сайты связывания miRNA выявлены в 5'UTR, CDS и 3'UTR mRNA с достоверностью $p<0.0005$. MiRNA, подавляющие экспрессию изученных генов являются онко-miRNA. MiRNA могут быть использованы для диагностики и лечения онкологических заболеваний.

MIRNA BINDING SITES IN MRNAS OF TUMOUR SUPPRESSOR GENES

Berillo O.A., Baidildinova G.K., Moldagalieva A.G.and Ivashchenko A.T.
National Nanotechnology Laboratory, Al-Farabi Kazakh National University,
050038, Al-Farabi 71 st., Almaty, Kazakhstan

Tumour suppressors control cell proliferation and some of them participate in apoptosis, cell cycle and play key role in development of cancer. The expression of tumour suppressor genes can decrease

via interactions with miRNAs. MiRNAs are small noncoding RNAs with a length 22 nucleotides that promote the suppression of translation. The concentration of some miRNAs is changed considerably in biological liquids during the development of cancer. These changes can act as a signal of the malignant degenerations of cells. It is important to find the specific miRNAs binding to mRNAs of tumour suppressors.

The binding sites of 2036 miRNAs were found within the 5'UTRs, CDSs, and 3'UTRs of 828 mRNAs of tumour suppressor genes. Only 1335 of 2036 studied miRNAs are revealed as translation regulators of mRNAs: 3935 miRNA binding sites are situated in CDSs, 1828 - 5'UTRs and 3017 - 3'UTRs.

Some miRNAs can reduce the expression of many tumor suppressor genes. For example, miR-4447 has 215 binding sites with 170 mRNAs: 135 sites in CDSs, 38 - in 3'UTRs and 42 - in 5'UTRs. Some miRNAs can be bound with one mRNA in several positions: 26 miRNAs have three binding sites with everyone of 33 genes. For example, miR-4447 has three binding sites with everyone CDSs of *BAI1, CREBBP, CUX1, ERAS1, GLTSCR1, HIPK2, MN1,* and *SCRIB* mRNAs. miR-4447 is encoded in intron of *LSAMP* gene. Intronic miRNAs are expressed together with their host genes, encoded as precursors miRNAs. These miRNAs provide connections between host genes and target genes through intragenic miRNAs. Changes in host gene expression lead to changes in intronic miRNA expression, which influence the translation of their target genes. Thus the expression of 170 tumor suppressor genes depend on expression LSAMP gene and his intronic miR-4447.

miRNA binding sites with significance $p<0.0005$ in 5'UTRs, CDSs and 3'UTRs of mRNAs have revealed. miRNAs repressing the expression of studied genes are oncomiR. These miRNAs can be used for diagnostics and treatment of cancer diseases.

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ МИЦЕЛЛЯРНЫХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ ЛИПОТЕТРАПЕПТИДОВ

Колоскова О.О., Буданова У.А., Себякин Ю.Л.
Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова,
119571, Москва, пр. Вернадского, 86, e-mail: c-221@yandex.ru

Использование нуклеиновых кислот в качестве лекарственных молекул является важным направлением будущей молекулярной медицины. Катионные липиды способны защищать ДНК от ферментативного расщепления и доставлять в клетки, взаимодействуя с отрицательно заряженной клеточной мембраной.

Ранее нами была создана обширная «библиотека» амфифилов на основе липодипептидов, полярная часть которых представлена дипептидами LysGlu и OrnGlu, а гидрофобная компонента различными по длине остатками алифатических спиртов и исследованы их мембранообразующие свойства.

С целью получения более эффективных медиаторов трансфекции и расширения «библиотеки» был осуществлен синтез новых липотетрапептидов на основе диэфиров L-глутаминовой кислоты.

Для всех синтезированных соединений был рассчитан критический параметр упаковки, который свидетельствует, что наиболее вероятным видом их структурной организации в воде является мицеллярная форма.

Для характеристики образующихся агрегатов в отношении диаметра частиц и степени их гетерогенности по размерам применялись методы спектротурбодиметрии и фотонно-кореляционной спектроскопии. Наиболее часто встречающимся размером являлся 60нм.

Также был определен дзета-потенциал и стабильность полученных дисперсий во времени. В течение трех месяцев резких изменений оптической плотности не наблюдалось.

Эффективность трансфекции исследовалась на клетках HEK293 и превысила 80%, что является наилучшим результатом среди известных синтетических медиаторов трансфекции.

Полученные данные свидетельствуют о том, что синтезированные нами липотетрапептиды являются перспективными для дальнейшего изучения и практического использования.

STUDY OF THE PROPERTIES OF MICELLAR GENE DELIVERY SYSTEMS BASED ON LIPOTETRAPEPTIDES

Koloskova O.O., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L.
Moscow State University of Fine Chemical Technology named after M.V.Lomonosov
119571 Moscow, pr.Vernadskogo, 86, e-mail: c-221@yandex.ru

Nucleic acids as therapeutic molecules is an important drugs for future molecular medicine. Cationic lipids are able to protect the DNA from enzymatic degradation and to deliver into cells by interacting with the negatively charged cell membrane.

We have previously synthesized an extensive "library" of amphiphiles based on lipodipeptides, the polar part of them are dipeptides LysGlu and OrnGlu, a hydrophobic component is represented as residues of aliphatic alcohols with various length. We investigated membrane properties of the dispersions.

In order to obtain more effective mediators of transfection and increase the "library" we synthesized new lipotetrapeptides based on diesters of L-glutamic acid.

The critical parameter of packaging was calculated for all synthesized compounds. It indicate that the most probable form of structural composition in water is a micellar solution.

To characterize the aggregates in the diameter of the particles and the degree of heterogeneity we used spektroturbodimetriya photon-correlation spectroscopy methods. Most most common size was 60nm.

Also we measured the zeta potential and stability of the dispersion over time. There were no changes in the optical density within three months.

Transfection efficiency on HEK293 cells was more than 80%, which is the best result among the known synthetic mediators transfection.

These data indicate that our synthesized lipotetrapeptides are promising for further study and practical use.

ПОЛУЧЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ИЗ СОПОЛИМЕРА МОЛОЧНОЙ И ГЛИКОЛЕВОЙ КИСЛОТ И ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕГРАДАЦИИ СИСТЕМЫ В СРЕДАХ БЛИЗКИХ К ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМ

Кононова Е.А., Сорокоумова Г.М.
Московский государственный университет
тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова,
г. Москва, пр-т Вернадского, д. 86

До сих пор остаётся мало изученной проблема деградации полимерных наночастиц (НЧ) в физиологических средах. Целью данной работы было получение и характеристика наночастиц из сополимера молочной и гликолевой кислот и изучение механизмов деградации этой системы в средах близким к физиологическим.

Нами были получены НЧ из биодеградируемого сополимера молочной и гликолевой кислот. Получали НЧ методом двойной эмульсии типа вода-масло-вода, в качестве стабилизатора использовали поливиниловый спирт (ПВС) MW 25.000 (количество ацетатных групп не более 0,9-1,7 мол. %). Частицы лиофилизировали; после регидратации порошка-лиофилизата при нагревании определили размеры частиц (120-400 нм).

Методами дифференциальной сканирующей калориметрии и гравиметрии была оценена степень деградации полимера в НЧ в среде буфера трис-HCl (pH=7,4). Было показано, что в течение первых 3 суток идёт быстрое отщепление мономеров от полимерных цепей, а затем идёт медленное расщепление самих полимерных цепей на олигомерные гидрофобные фрагменты.

Исследовали кинетику высвобождения арсеназо III из НЧ в буфере трис-HCl pH=7,4 и в среде плазмы крови человека. Показали, что из НЧ высвобождается 59,0% арсеназо III в буфере и 10,4% арсеназо III в плазме крови за 8 суток; кроме того, в среде плазмы образовались нерастворимые агрегаты НЧ и белков плазмы крови, что говорит о необходимости гидрофилизации поверхности НЧ.

Было показано, что при регидратации с нагреванием происходит полная десорбция ПВС с поверхности частиц, а значит, необходимо использовать ПВС с большим количеством ацетатных групп, например, ПВС MW 30.000-70.000 с 10-13 мол. % ацетатных групп. За 10 минут перемешивания лиофилизат НЧ, приготовленных с этим ПВС был полностью регидратирован. Поверхность таких НЧ остаётся гидрофилизированной молекулами ПВС, что препятствует адсорбции на ней гидрофобных белков плазмы крови.

На основе данных экспериментов показана необходимость гидрофилизации поверхности полимерных НЧ для их стабилизации в среде плазмы крови человека.

DEVELOPMENT OF POLY-(D,L-LACTIC-CO-GLYCOLIC) ACID NANOPARTICLES AND EVALUATION OF THEIR DEGRADATION IN CLOSE-TO-PHYSIOLOGICAL ENVIRONMENT

Kononova E.A., Sorokoumova G.M.
Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technologies,
Moscow, Vernadsky pr., 86

The problem of polymeric nanoparticles (NPs) degradation in physiological environment is still less studied. The aim of this work was obtaining and evaluation of poly-(D,L-lactic-co-glycolic) acid nanoparticles and their degradation mechanisms study in close-to-physiological environment.

We obtained NPs of biodegradable poly-(D,L-lactic-co-glycolic) acid. We used the double emulsion/solvent evaporation technique and took polyvinyl alcohol (PVA) MW 25.000 (no more than 0,9-1,7 mol. % of acetate groups) as a stabilizer of outer water phase. Particles were lyophilized. We reconstituted particles lyophilized in distilled water under heating and than measured their diameters (120-400 nm).

Degradation rate of unloaded polymeric NPs in tris-HCl buffer solution (pH=7,4) was estimated by means of differential scanning calorimetry and gravimetry. It was shown that during first 3 days of storage quick monomer elimination takes place, and after 3 days slow degradation of polymeric chains to oligomeric fragments occurs.

The next step was to study release kinetics of Arsenazo III from NPs in tris-HCl buffer solution (pH=7,4) and in human plasma environment. It was shown that NPs release 59,0% of Arsenazo III in buffer solution and 10,4% of Arsenazo III in human plasma after 8 days of storage. Moreover, plasma proteins adsorbed on NPs' surface and produced aggregates in plasma environment, e.g. importance of NPs surface hydrophilization grows up.

Full desorption of PVA from nanoparticles surface under heating was showed shown, hence, one should use PVA with higher amount of acetate groups (for example, PVAMW 30.000-70.000 with 10-13 mol. % of acetate groups). Using this PVA one can obtain lyophilized nanoparticles with ability to reconstitute in distilled water at room temperature after 10 minutes of shaking. Such NPs surface stays hydrophilized by PVA molecules, which prevent plasma protein adsorption.

Based on these experiments there was shown a requirement of hydrophilization of NPs surface to stabilize them in human plasma environment.

ПРИМЕНЕНИЕ КЛАСТЕРНЫХ НЕОГЛИКОКОНЪЮГАТОВ НА ОСНОВЕ D-ГЛЮКОЗЫ В СОСТАВЕ ЛИПОСОМ ДЛЯ ДОСТАВКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Курочкина Н.А., Стрижевская Д.А., Щелик И.С., Шишина А.К., Себякин Ю.Л.
Московский государственный университет
тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова,
119571, г. Москва, пр-т Вернадского, д. 86

Углевод-белковые взаимодействия играют важную роль во многих биологических процессах, таких как передача сигнала, воспаление и метастазирование, бактериальная и вирусная инфекция. В природе эти процессы реализуются при помощи связывания остатков углеводов с клеточными рецепторами – лектинами. Однако, во многих случаях, моносахарид-белковые взаимодействия очень слабые. Сила связывания, а также его специфичность может быть увеличена при помощи мультивалентных взаимодействий, т.е. при одновременном образовании нескольких связей между остатками углеводов с доменом белка. Такое явление было названо «гликозидным кластерным эффектом».

Синтетические кластерные неогликоконъюгаты широко используются в качестве миметиков природных разветвленных лигандов. Молекулы углеводов являются полифункциональными от природы и применяются в качестве мультивалентного ядра в синтезах углеводсодержащих конъюгатов. В нашей работе центром ветвления неогликоконъюгатов стала D-глюкоза. Для получения гликокластеров с углеводным центром использовалась реакция 1,3-диполярного циклоприсоединения между азидогликозидом и углеводом с терминальным алкином.

Мультивалентные неогликоконъюгаты могут выступать в качестве вектора для направленной доставки биологически активных соединений, поэтому полученные молекулы включались в липосомы состава $OrnGlu(C16)_2$. Для модифицрованных липосом были изучены физико-химические свойства, измерены размер частиц и температура фазового перехода. Полученные липосомальные системы доставки могут иметь множество применений для антиадгезионной терапии, контроля высвобождения лекарственных препаратов, диагностики заболеваний. Такое использование достигается за счет различных терминальных остатков углеводов.

APPLICATION OF CLUSTER NEOGLYCOCONJUGATES, BASED ON D-GLUCOSE, IN LIPOSOMES FOR DELIVERY OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS

Kurochkina N.A., Strizhevskaya D.A., Shchelik I.S., Shishina A.K., Sebyakin Y.L.
Moscow State University of Fine Chemical Technologies Named after M.V.Lomonosov
119571, Moscow, Vernadsky pr., 86

Carbohydrate-protein interactions play an important role in many biological processes such as signal transduction, inflammation and metastasis, bacterial and viral infection. In nature, these pro-

cesses are realized by binding carbohydrate residues of cell surface receptors – lectins. However, in many cases, monosaccharide-protein interactions are very weak. The strength of binding, as well as its specificity can be increased by means of multivalent interactions, i.e. with simultaneous formation of several bonds between residues of carbohydrates with protein domains. This phenomenon was called "glycoside clustering effect."

Synthetic cluster neoglycoconjugates widely used as mimetics of natural branched ligands. Carbohydrates are natural polyfunctional molecules, they are exploited as the core for the synthesis of multivalent carbohydrate conjugates. In our work, the center of branch neoglycoconjugates became D-glucose. For preparations of carbohydrate-centered glycoclusters we have used the 1,3-dipolar cycloaddition between azidoglycoside and carbohydrate with a terminal alkyne.

Multivalent neoglycoconjugates can act as vectors for target delivery of biologically active compounds, that is why these molecules are incorporated into liposomes of $OrnGlu(C16)_2$. For the liposomes to be modified we have studied physical and chemical properties, measured particle size and temperature of the phase transition.

Received liposomal delivery systems can have many uses for the anti-adhesion therapy, controlling the release of drugs and diagnostics. This application is achieved through the use of different terminal residues of carbohydrates.

ЛИПОСОМАЛЬНЫЕ НАНОКОНТЕЙНЕРЫ ДЛЯ ПРОТИВОРАКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ СОЛЕЙ ПЛАТИНЫ

Кузнецов И.И.[1], **Абакумова Т.О.**[1], **Власова К.Ю.**[1,2], **Кабанов А.В.**[2,3], **Нуколова Н.В.**[1,2], **Чехонин В.П.**[1]

[1]*ФГБУ «ГНЦССП имени В.П.Сербского» Минздрава России,*
119991, Москва, Кропоткинский пер., д. 23
[2]*МГУ имени М.В. Ломоносова, химический факультет,*
119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3
[3]*Университет Северной Каролины в Чапел-Хилл,*
Чапел-Хилл, Северная Каролина 27599-7362

Широко применяемые при лечении онкологических заболеваний платиновые производные обладают высокой системной токсичностью и быстро выводятся из организма. Для увеличения максимально переносимой дозы таких препаратов и изменения фармакокинетических характеристик возможно заключение их вовнутрь контейнерных систем.

Целью данной работы является разработка стабильных липосомальных наноконтейнеров, эффективно загруженных цисплатином (CDDP) и цис-диаминдинитратплатиной (II) (CDDP3).

Для получения системы липосомы/противораковый препарат использовали фосфатидилхолин (PC), холестерин, DSPE-PEG(2000), CDDP и CDDP3. Синтез проходил в два этапа: вначале получали липидную оболочку, а затем эмульгировали её в водном растворе соли платины. Физико-химические характеристики липосом были изучены методом динамического светорассеяния и рентгенофлуоресцентным анализом. Цитотоксические свойства полученных препаратов изучали на культуре клеток глиомы C6, используя MTS-тест.

В результате работы были успешно синтезированы стабильные липосомы диаметром 168±10 нм, индексом полидисперсности 0,16±0,02 и ζ-потенциалом равным -32,7±2,5 мВ. Эффективность загрузки составила 2,3±0,3 % и 11,5±2,3 % для CDDP и CDDP3, соответственно. Цитотоксичность CDDP и CDDP3 понижалась после их введения в липосомы.

Благодарности: Работа выполнена при поддержке гранта Правительства Российской Федерации 11G34.31.0004 от 30.11.2010 г.

LIPOSOMAL NANOCONTAINERS FOR ANTICANCER DRUGS BASED ON PLATINUM SALT

Kuznetsov I.I.[1], **Abakumova T.O.**[1], **Vlasova K.Y.**[1,2], **Kabanov A.V.**[2,3], **Nukolova N.V.**[1,2], **Chekhonin V.P.**[1]

[1]*Serbsky National Research Center for Social and Forensic Psychiatry, Kropotkinskiy 23, Moscow, 119991, Russia*

[2]*Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Leninskie Gory, 1/3, Moscow, 119991, Russia*

[3]*Center for Nanotechnology in Drug Delivery and Division of Molecular Therapeutics, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC 27599-7362*

Platinum derivatives are widely used in the treatment of cancer, but they characterized by high systemic toxicity and rapid elimination from the body. To increase the maximum tolerated dose of such drugs and change pharmacokinetic characteristics, they can be encapsulated into nanocontainer systems.

The goal of this work was to develop the stable liposomal nanocontainers efficiently loaded with cisplatin (CDDP) and cis-diamindinitratplatin (II) (CDDP3).

To obtain the system liposomes/drug we used phosphatidylcholine (PC), cholesterol, DSPE-PEG (2000), CDDP and CDDP3. The synthesis was carried out in two stages: formation of lipid film, and then loading of drugs by emulsification of lipids in an aqueous solution of platinum salt ([CDDP] = 3 mg/ml, [CDDP3] = 15 mg/ml). Gel filtration chromatography on Sephadex G25 was performed for elimination of free drugs. Physicochemical characteristics of the loaded liposomes have been studied by dynamic light scattering and X-ray fluorescence analysis. The cytotoxic effects of obtained formulations were studied on cell culture glioma C6, using MTS-test.

As a result of the work we synthesized the stable liposomes with diameter 168±10 nm, polydispersity index 0.16±0.02 and ζ-potential -32.7 ± 2.5 mV. Loading efficiency was 2.3±0.3 % and 11.5±2.3 % for CDDP and CDDP3, respectively. Cytotoxicity of CDDP and CDDP3 decreased after their introduction into liposomes, due to the slow release of the drug from nanocontainers.

Acknowledgments: This work was supported by the grants from Government of Russian Federation 11G34.31.0004, 30.11.2010.

ЛИПОСОМАЛЬНАЯ ФОРМА ПРИРОДНЫХ ЛИПИДОВ КАК ЭФФЕКТИВНАЯ НАНОСИСТЕМА АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Ламажапова Г.П., Жамсаранова С.Д.

ФГБОУ ВПО «Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления», г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40в, стр. 1

Необходимость перехода ряда направлений биомедицинских наук, в частности экспериментальной фармакологии, на уровень бионанотехнологий отражает современный этап научно-технической революции (Зайцев С.Ю., 2010). Исследование липосом, как наносистем, обладающих по своей химической структуре наибольшей тропностью к тканям организма, все еще продолжается. Липосомальные формы биологически активных соединений и лекарственных средств создаются учеными и технологами специально для доставки их к клеточным и молекулярным системам организма (Швец В.И.с соавт., 2008). Нами были разработаны способы получения липосомальных биологически активных средств на основе покровного жира и липидов печени нерпы, содержащих уникальные соотношения ω-6/ω-3 полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК).

При воспроизведении моделей деструкции мембран эритроцитов, иммуносупрессивных состояний, воспалительных процессов, а также при инициировании свободнорадикальных процессов в тканях лабораторных животных были установлены мембраностабилизирующая, иммуномодулирующая, противовоспалительная и антиоксидантная активности липосомальной формы липидов нерпы. Липосомы, содержащие природные ПНЖК, проявляли выраженные гиполипидемический и гепатотропный эффекты на моделях гиперхолестеринемии и экспериментального токсического гепатита. Установлено, что при включении пептидного биорегулятора и растительных средств в липосомы, содержащие липиды нерпы, сохраняется функция липосом как контейнеров для эффективной транспортной доставки биологически активных средств в патологические очаги организма, что выражалось в повышении их фармакологической активности и фармакотерапевтической эффективности. Эти результаты согласуются с литературными данными (Heiati H. et al., 1996; Sinico C. et al., 2005), указывающими на перспективность использования эссенциальных «жидких» жиров в составе транспортных наносистем.

LIPOSOMAL FORM OF NATURAL LIPIDS AS EFFECTIVE NANOSYSTEM OF TARGETED DRUG DELIVERY

Lamazhapova G.P., Zhamsaranova S.D.
East-Siberian State University of Technology and Management,
40v Klyuchevskaya str., Ulan-Ude

Need to move a number of areas of biomedical sciences, in particular experimental pharmacology, on the level of bionanotechnology reflects the current stage of scientific and technological revolution (Zaitsev S.Y., 2010). The study of liposomes as nanosystems having on their chemical structure most tropism to the body tissues, is still developing. Liposomal forms of biologically active compounds and drugs are creating by scientists and technologists specifically to deliver them to cellular and molecular systems of the body (Shvets V.I.et al., 2008). We have developed methods for preparing liposomal bioactive agents based on the fat and liver lipid of seal containing unique ω-6/ω-3 ratio of polyunsaturated fatty acids (PUFAs).

On the models of degradation of erythrocyte membranes, immunosuppressive conditions, inflammation, as well as the initiation of free radical processes in tissues of laboratory animals have been installed membrane stabilizing, immunomodulatory, anti-inflammatory and antioxidant activity of liposomal form of lipids seal. Liposomes containing natural PUFAs showed pronounced hypolipidemic and hepatotropic effects on experimental models of hypercholesterolemia and toxic hepatitis. It was found that the peptide bioregulator and herbal remedies included into liposomes containing seal lipids, function of liposomes as a container for the effective delivery of biologically active transport of pathological lesions in the body is retained, which was reflected in the improvement of their pharmacological activity and pharmacotherapeutic efficacy. These results are consistent with published data (Heiati H. et al., 1996; Sinico C. et al., 2005), indicating the promise of essential “liquid” lipids in the transport nanosystems.

МЕХАНИЗМ БАКТЕРИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛИПОСОМАЛЬНОГО КАРДИОЛИПИНА НА КЛЕТКИ *ESCHERICHIA COLI*

Микулович Ю.Л.[1], **Сорокоумова Г.М.**[1], **Селищева А.А.**[1,2], **Швец В.И.**[1]

[1]*Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, проспект Вернадского, д. 86*

[2]*Биологический факультет Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1*

Ранее мы впервые показали, что экзогенный природный фосфолипид кардиолипин (КЛ) обладает бактерицидным действием в отношении E. coli [1], которое обусловлено повреждением ДНК клеток (наличие двуцепочечных разрывов) [1]. Целью настоящей работы являлось выявление причин повреждения ДНК и установление механизма бактерицидного действия КЛ. При анализе продуктов реакций, катализируемых ДНК-топоизомеразой I и ДНК-гиразой, в присутствии КЛ методом электрофореза в агарозном геле не обнаружено накопления никованной и линейной ДНК, что означает отсутствие стабилизации КЛ переходных комплексов фермент-расщепленная ДНК и, как следствие, опровергает идею повреждения ДНК за счет ингибирования ДНК-топоизомераз и стабилизации переходных комплексов с ними. Другой причиной повреждения ДНК могут быть активные формы кислорода (АФК), образующиеся при действии бактерицидных антибиотиков [2]. Для обнаружения супероксид анион-радикала (САР) в клетках E. coli в присутствии КЛ использовали люцигенин-активируемую хемилюминесценцию (Люц-ХЛ). Показано, что Люц-ХЛ в присутствии КЛ почти в 5 раз превышала Люц-ХЛ в отсутствие препарата. Подтверждением гипотезы повреждения ДНК клеток в присутствии КЛ вследствие АФК являлось увеличение жизнеспособности клеток M. tuberculosis и E. coli в присутствии антиоксидантов (глутатион, $SkQ1H_2$ - 10-(6'-пластохинонил) децилтрифенилфосфоний) и летальных концентраций КЛ, которую определяли измерением оптической плотности культуры при 600 нм или методом подсчета колониеобразующих единиц соответственно.

Таким образом, на основе полученных нами данных и литературы мы предлагаем следующий механизм бактерицидного действия КЛ на клетки *E. coli*: КЛ вызывает генерацию САР, который взаимодействует с Fe-S кластерами в составе белков дыхательной цепи, дестабилизирует их, вследствие чего высвобождается Fe^{2+}, вступающий, в свою очередь, во взаимодействие по реакции Фентона с перекисью водорода с образованием очень токсичного гидроксильного радикала, который разрушает все клеточные компоненты: белки, липиды, ДНК – и приводит к гибели клеток.

Работа выполнена при финансовой поддержке и в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» Федерального агентства по образованию (ГК № П2277, ГК № 14.740.11.0120 и Соглашение с МОН РФ № 14.B 37.21.0193).

1. Микулович Ю.Л., Сорокоумова Г.М., Селищева А.А.и др. // Тезисы докладов III международной научно-практической конференции «Постгеномные методы анализа в биологии, лабораторной и клинической медицине». Казань, 22-24 ноября 2012. С. 66.
2. Kohanski M.A., Dwyer D.J., Hayete B. et al. // Cell. 2007. V. 130. P. 797 – 810.

THE MECHANISM OF BACTERICIDAL ACTION OF LIPOSOMAL CARDIOLIPIN ON *ESCHERICHIA COLI* CELLS

Mikulovich J.L.[1], **Sorokoumova G.M.**[1], **Selishcheva A.A.**[1,2], **Shvets V.I.**[1]
[1]*M.V. Lomonosov State University of Fine Chemical Technologies,*
119571, Moscow, Vernadsky prospectus, 86
[2]*Biological Faculty of M.V.Lomonosov Moscow State University,*
119992, Moscow, Leninskie gory, 1

We have shown previously that exogenous natural phospholipid cardiolipin (CL) had bactericidal effect on Escherichia coli [1] resulted from DNA damage (double-stranded breaks) [1]. The aim of the research was to determinate the cause of the DNA damage and CL mode of action. One of the cause could be stabilization of transient complex between cleaved DNA and topoisomerase I/II by cardiolipin (similarly with fluoroquinolones which inhibit DNA gyrase) as a consequence of cardiolipin inhibitory action on reactions, catalyzed by DNA topoisomerase I and DNA gyrase [1]. Stabilization complex by CL was analyzed by electrophoresis in 0,9% agarose gel and arised from accumulation of nicked or linear DNA. However, nicked or linear DNA accumulation wasn't observed. It meant that CL didn't stabilize transient complex and, consequently, the hypothesis about DNA damage because of DNA topoisomerases inhibition was rejected. Another cause of DNA damage could include reactive oxygen species (ROS) generated plentiful by bactericidal antibiotics [2]. Superoxide anion radical (SAR) detection in E. coli cells was monitored by lucigenin-amplified chemiluminescence (LucChL). It was shown LucChL in E. coli cells cultivated with CL 608 μM was 5-times higher than that of system without CL. The survival rise M. tuberculosis and E. coli cells cultivated with CL and antioxidants (glutathione, $SkQ1H_2$ - 10-(6'-plastoquinonyl) decyltriphenylphosphonium) confirmed the hypothesis about DNA damage due to ROS generation in the presence of CL. M. tuberculosis and E. coli cells viability determined by optical density measurements at 600 nm and colony-forming units calculation, respectively.

Thus, on the basis of data obtained and scientific literature, we could suggest the following CL mode of action on *E. coli*: CL induces SAR generation, SAR interacts with Fe-S clusters composed of respiratory chain proteins and destabilizes them with the following Fe^{2+}release. Fe^{2+}reacts with hydrogen peroxide (Fenton reaction) to form toxic hydroxyl radical which can damage cell DNA, proteins and lipids and ultimately result in cellular death.

1. Mikulovich J.L., Sorokoumova G.M., Selischeva A.A.et al. // Scientific conference abstracts of III International research-to-practice conference «Postgenom analysis methods in biology, laboratorial and clinical medicine». Kazan, 22-24 november 2012. P. 66.
2. Kohanski M.A., Dwyer D.J., Hayete B. et al. // Cell. 2007. V. 130. P. 797 – 810.

НАНОЧАСТИЦЫТРИТЕРПЕНОИДОВ, СЕНСИБИЛИЗИРОВАННЫЕ АМФИФИЛЬНЫМИ *МЕЗО*-АРИЛПОРФИРИНАМИ, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АГЕНТЫ ДЛЯ ФДТ

Нгуен Х.К., Жданова К.А.
Московский государственныйуниверситет тонких химических технологий
им. М.В. Ломоносова
Российская Федерация, 119571 Москва, пр. Вернадского, 86.
Факс: (495) 9368903, E-mail:anpha2004@yahoo.com, mishkina_ksyusha@mail.ru

Разработка новых транспортных систем доставки гидрофобных лекарственных средств является одним из направлений по повышению эффективности данных лекарств, их биодоступности и адресности. Большинство клинически и экспериментально используемых в фотодинамиче-

ской терапии (ФДТ) рака препаратов являются производными неполярных тетрапиррольных соединений, существенной проблемой которых является их низкая растворимость в физиологических условиях и токсичность.

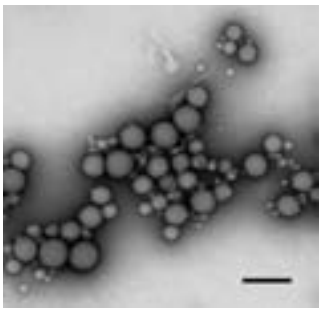


Рис.1. Электронные микрофотографии полученных наночастиц, масштабный отрезок 500 нм.

Данная работа посвящена исследованию наночастиц на основе амфифильных *мезо*-арилпорфиринов и сферических аморфных наночастиц (САНЧ) на основе смеси тритерпеноидов бересты (СТБ) в качестве потенциальных агентов для ФДТ. В работе использовали ряд порфиринов, в которых варьировалась степень гидрофобности. Сферические аморфные наночастицы. (САНЧ),состоящие изосновныхкомпонентов смеси тритерпеноидовбересты (СТБ)(средний размер 100 - 200 нм), не обладают токсичностью, и, благодаря своим структурным особенностям, могут быть использованы в качестве средств доставки гидрофобных соединений.Были приготовлены и исследованы две серии нанодисперсий СТБ:при фиксировании концентрации раствора (2% от массы СТБ)изменяли содержание порфирина 5%, 10% или при фиксировании концентрации порфирина (2%) изменяли количество добавляемого гемисукцината холестерина. Показано, что присутствие гемисукцината холестерина повышает стабильность полученныхнаночастиц. Свойства полученныхнаночастиц были исследованы методами электронной микроскопии, динамического светорассеяния, УФ-спектроскопии, флуориметрии.

TRITERPENOIDNANOPARTICLESSENSITIZEDOFAMPHIPHILIC*MESO*-ARYLPORPHYRINSAS POTENTIAL AGENTS FOR PDT

Nguyen H.Q., Zhdanova K.A.
M.V.LomonosovMoscowStateUniversity of Fine Chemical Technology
Russian Federation, 119571, Moscow, Vernadsky avenue,86
Fax: (495) 9368903, E-mail:anpha2004@yahoo.com, mishkina_ksyusha@mail.ru

Elaboration of new transport systems for the hydrophobic drugs delivery is one of the areas to improve the efficiency of these drugs, their bioavailability and targeting. Most of the cancer drugs used both clinically and experimentallyin photodynamic therapy (PDT) is derived from the non-polar tetrapyrrole compounds; a significant problem of them is their low solubility in physiological conditions and toxicity.

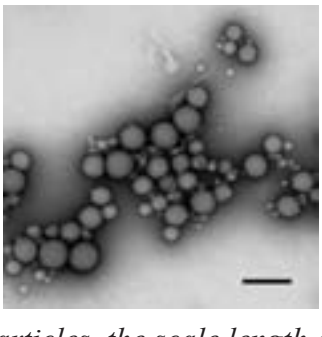


Fig.1. Electron micrographs of the nanoparticles, the scale length of 500 nm.

This work is devoted to the study of nanoparticles based on amphiphilic*meso*-arylporphyrins and spherical amorphous nanoparticles (SANp), based on a mixture of birch bark triterpenoids (MBBT) as potential agents for PDT.In this work were used a series of porphyrins, in which were ranged the degree of hydrophobicity.Spherical amorphous nanoparticles (SANp) consisting of the main components of a mixture of birch bark triterpenoids (MBBT) (average size of 100 - 200 nm) are nontoxic and due to its structural characteristics can be used as a means of delivery of hydrophobic compounds. We were prepared and investigated two series of nanodispersionMBBT: by fixing the concentration of the solution (2% by weight of the STB) and modifying the contents of porphyrin 5%, 10%, or by fixing the concentration of porphyrin (2%) and changing the amount of added cholesterol hemisuccinate (CHS). It is shown that the presence of cholesterol hemisuccinate(CHS) increases stability of the resultant nanoparticles.Properties of the nanoparticles were studied byelectron microscopy, dynamic light scattering, UV spectroscopy, fluorescence.

ПРИМЕНЕНИЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ИММУНОХИМИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА АФЛАТОКСИН В1

Петракова А.В.[1], **Урусов А.Е.**[1], **Возняк М.В.**[2], **Жердев А.В.**[1], **Дзантиев Б.Б.**[1]
[1]*Институт биохимии им. А.Н.Баха Российской академии наук, Москва, Ленинский пр, д. 33;*
[2]*ООО «ИЛ-ТЕСТ Пущино», Пущино, ул. Грузовая, 1г*

Микотоксины являются одним из приоритетных классов контаминант сельскохозяйственной продукции и представляют существенную опасность для здоровья человека и животных. Для обеспечения эффективного мониторинга безопасности продуктов питания необходима разработка новых методов детектирования микотоксинов, сочетающих высокую чувствительность, специфичность и производительность. Задачей проведенного исследования была характеристика магнитных иммуносорбентов как средств сокращения продолжительности и снижения предела обнаружения иммуноферментного анализа (ИФА).

Получена панель из 10 препаратов наночастиц (НЧ) магнетита, охарактеризованная по размерам и форме частиц (методом просвечивающей электронной микроскопии), магнитным свойствам, стабильности суспензии. Выбранный препарат (средний диаметр 10 нм) был конъюгирован с моноклональными антителами против афлатоксина В1 (АФВ1). Изучены концентрационные зависимости конъюгирования, определен оптимальный состав получаемого иммуносорбента.

Предложена методика ИФА, в которой магнитные НЧ используются одновременно для концентрирования аналита из больших объемов проб и как носитель для формирования детектируемых комплексов с ферментной меткой. Оптимизированы продолжительности стадий анализа и концентрации реагентов. Показана стабильность компонентов аналитической системы к действию органических растворителей, позволяющая минимизировать разведение растительных экстрактов при проведении анализа (конечная концентрация метанола 20%). Разработанная методика характеризуется пределом обнаружения АФВ1, равным 1 пг/мл (в 10 раз ниже, чем в традиционном ИФА) и продолжительностью определения 30 мин (вместо 1,5-2 часов). Предложенные подходы носят универсальный характер и могут быть применены для контроля различных контаминант.

Работа выполнена при поддержке грантов РФФИ 10-03-00990 и 11-08-93968.

THE USE OF MAGNETIC NANOPARTICLES FOR THE DEVELOPMENT OF IMMUNOCHEMICAL TEST SYSTEM FOR AFLATOXIN B1

Petrakova A.V.[1], **Urusov A.E.**[1], **Voznyak M.V.**[2], **Zherdev A.V.**[1], **Dzantiev B.B.**[1]
[1]*A.N. Bach Institute of Biochemistry RAS, Moscow, Leninsky prospekt 33;*
[2]*«IL-TEST Puschino» Ltd, Pushchino, Gruzovaia 1g*

Mycotoxins being priority contaminants of agricultural products pose significant risk to human and animal health. Development of novel methods for mycotoxins detection that combine high sensitivity, specificity and productivity is necessary for effective monitoring of food safety. The aim of our study was the characterization of magnetic immunosorbents as means to reduce the duration and the detection limit of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

Panel of 10 nanoparticles (NPs) preparations of magnetite was obtained and characterized by their size and shape (transmission electron microscopy), magnetic properties, stability of suspension. Selected preparation (average diameter 10 nm) was conjugated with monoclonal antibodies against aflatoxin B1 (AFB1). The concentration dependences of the conjugation were studied, and the optimal composition of the resultant immunosorbent was determined.

The ELISA technique is proposed, in which the magnetic NPs are used both for the concentration of the analyte from large volumes of samples and as the carrier to form a detectable complex with an enzyme label. Duration of analysis stages and concentration of reactants have been optimized. Stability of the components of the analytical system to organic solvents has been shown, allowing to minimize dilution of plant extracts before the analysis (final concentration of methanol is equal to 20%). The developed method is characterized by a detection limit AFB1 of 1 pg/ml (10 times lower than in the traditional ELISA) and duration 30 minutes (instead of 1.5-2 hours). Proposed approaches are universal and may be used to control various contaminants.

This work was supported by RFBR grants 10-03-00990 and 11-08-93968.

ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ПОЛОВЫХ КЛЕТКАХ МЫШЕЙ

Полякова Т.В.[2], **Орджоникидзе К.Г.**[2], **Егорова Е.М.**[1,3]
[1]*НПК «НАНОМЕТ», Москва, ул. Долгоруковская,д.33, стр.8;*
[2]*Институт общей генетики им. Н.И.Вавилова РАН,*
Москва, Губкина, 3, chiris.ordj@gmail.com;
[3]*Институт общей патологии и патофизиологии РАМН,*
Москва, Балтийская,8, emenano@mail.ru

Для безопасного применения наночастиц металлов в биологии и медицине необходимо изучение как их общей токсичности, так и генотоксических эффектов [1]. В настоящей работе сообщается о результатах исследования действия водных растворов наночастиц серебра (НЧС), с применением двух стабилизаторов: синтетического (аэрозоль-ОТ, АОТ) и природного (0,1% растворимый крахмал). При изучении эффекта на клетки генеративного ряда самцов мышей (клетки семенника) *in vivo* методом щелочного гель-электрофореза единичных клеток было отмечено повреждающее действие суспензий НЧС+АОТ и НЧС+крахмал. В контрольных группах с введением АОТ или крахмала уровень повреждений оказался ниже, чем в соответствующих группах с НЧС. Показано, что уровень повреждений ДНК (% ДНК в хвосте «кометы») в группе НЧС + АОТ выше, чем в группе НЧС + крахмал. Найдено, что АОТ вносит высокий вклад в суммарную генотоксичность суспензии НЧС + АОТ, тогда как крахмал является нетоксичным соединением и лучше подходит для использования в качестве стабилизатора НЧС при работе

с биологическими объектами. Кроме того, была проведена оценка формирования синаптонемного комплекса в мейозе хромосом в клетках генеративного ряда у самцов мышей методом иммуноцитохимического анализа тотальных препаратов синаптонемных комплексов мейотических хромосом в распластанных ядрах (микроспредах). Предварительный анализ выявил определенные нарушения (атипичные утолщения, кольцевая хромосома, фрагментация СК), которые могли сформироваться под действием вводимых агентов.

Литература:

1. Oberdörster et all., // Nanotoxicology. – 2005. – V. 117 (7) P. 823-829.

GENOTOXIC EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLES ON THE GERM CELLS OF MICE

Polyakova T.V.[2], Ordzhonikidze K.G.[2], Egorova E.M.[1,3]
[1]*RDC «NANOMET», Moscow, Dolgorukovskaya st., 33, building 8.*
[2]*Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Gubkina st., 3, chiris.ordj@gmail.com*
[3]*General Pathology and Pathophysiology Institute RAMS, Moscow, Baltiiskaya st., 8, emenano@mail.ru*

For the safe use of metal nanoparticles in biology and medicine it is necessary to study their general toxicity and genotoxic effects [1]. In this work we report the results of investigations of the effect of aqueous solutions of silver nanoparticles (Ag NPs) using two stabilizers: synthetic (Aerosol-OT, AOT) and natural (0.1% soluble starch). In the study of the effect on generative cells in male mice (cells of the testis) *in vivo* by alkaline electrophoresis of single cells gel the damaging effect of Ag NPs and Ag NPs + starch suspensions was observed. In the control groups with introduction of AOT or starch the level of damage was lower than in the corresponding groups with Ag NPs. It was shown that the level of DNA damage (% DNA in the DNA "comet tail ") in the Ag NPs + AOT group was higher than in the Ag NPs + starch group. It was found that AOT makes high contribution to the total suspension of genotoxicity Ag NPs + AOT, while starch is a non-toxic compound and is better suited for use as a stabilizer in the Ag NPs work with biological objects.

In addition, we made an assessment of synaptonemal complex formation during meiosis in the chromosomes in generative cells in male mice by immunocytochemical analysis of total preparations of synaptonemal complexes of meiotic chromosomes in the flattened nuclei (mikrospredah). Preliminary analysis revealed certain abnormalities (abnormal thickening, ring chromosome fragmentation SC), which could be formed by the action of input agents.

References:

1. Oberdörster et all., // Nanotoxicology. – 2005. – V. 117 (7) P. 823-829.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ НА МИКРОЧИПАХ НА ОСНОВЕ ДЕТЕКЦИИ ЕДИНИЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ДНК МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ

Преснова Г.В.[1], Рубцова М.Ю.[1], Преснов Д.Е.[2,3], Григоренко В.Г.[1], Игнатенко О.В.[1], Егоров А.М.[1]
[1]*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*
[2]*НИИ Ядерной Физики им. Д.В. Скобельцына, МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*
[3]*Физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва*

Разработан метод выявления генов и мутаций в них методом гибридизационного анализа на кремниевых микрочипах с использованием наночастиц золота в качестве метки. В результа-

те взаимодействия олигонуклеотидных зондов и ДНК меченой биотином на поверхности микрочипа образовывались дуплексы ДНК, которые затем выявляли конъюгатом стрептавидина с наночастицами золота. Наночастицы на поверхности регистрировали методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Определение числа дуплексов ДНК на поверхности проводили подсчетом числа наночастиц золота в зонах микрочипа.

Проведено сравнительное изучение методов АСМ и СЭМ для исследования поверхностей кремния с иммобилизованными олигонуклеотидными зондами и дуплексами ДНК. Для контроля процессов, происходящих на поверхности кремния в процессе последовательного наращивания слоев, был впервые применен метод анализа сколов образцов кремния методом СЭМ.

Разработан метод идентификации генов и определения мутаций в них на основе гибридизационного анализа с использованием наночастиц золота в качестве метки и регистрации методом СЭМ. Особенностью метода является регистрация числа дуплексов ДНК на поверхности носителя по числу наночастиц золота, выявляемых методом СЭМ. Метод характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью, а также высоким отношением аналитический сигнал/фон. Данный метод был применен для идентификации генов бактериальных ферментов бета-лактамаз CTX-M типа и мутаций в них.

Работа выполнялась при финансовой поддержке РФФИ (12-02-01531).

IDENTIFICATION OF GENES ON THE MICROCHIPS WITH A DETECTION BASED ON SINGLE DNA INTERACTIONS USING SCANNING ELECTRON MICROSCOPY

Presnova G.V.[1], Rubtsova M.Yu.[1], Presnov D.E.[2,3], Grigorenko V.G.[1], Ignatenko O.V.[1], Egorov A.M.[1]

[1]*Chemistry Faculty, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow*

[2]*Skobeltsyn Institute of Nuclear Physics, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow*

[3]*Faculty of Physics, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow*

A method for identifying genes and mutations in them by hybridization analysis on silicon microchips using gold nanoparticles as labels was developed. DNA duplexes were formed on the surface of the microchip in a result of the interaction of complementary oligonucleotide probes and DNA labeled by biotin, than they were developed with a conjugate of streptavidin-gold nanoparticles. The nanoparticles on the surface were identified by scanning electron microscopy (SEM). Determination of the number of DNA duplexes on the surface was performed by counting the number of gold nanoparticles in the areas of the microchip.

A comparative study of the use of AFM and SEM to study the surfaces of the silicon microchips covered with the modifying agent, then oligonucleotides and DNA duplexes was performed. Comparable data were obtained to determine the height of layers formed by modification of the surface during hybridization analysis. The analysis of chipping pieces of silicon at different angles by SEM was first applied to control the processes at the surface of silicon in the process of successive layers of capacity.

A method of identifying genes and mutations in them based on hybridization analysis using gold nanoparticles as labels and recording SEM was first developed. Feature of the method is to record the number of DNA duplexes on a surface by the number of gold nanoparticles revealed by SEM. The method is characterized by high sensitivity and specificity, as well as a high ratio of the analytical signal/background ratio. This method was applied to identify the genes of bacterial enzymes beta-lactamases of CTX-M type and mutations in them.

The work was supported by the RFBR (12-02-01531).

АМИНО-ФУНКЦИОНАЛИЗОВАННЫЙ ФТОРУГЛЕРОДНЫЙ ГЕМОСОРБЕНТ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ НОСИТЕЛЬ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ БИОЛИГАНДОВ БЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ

Пьянова Л.Г.[1], Лихолобов В.А.[1], Даниленко А.М.[2], Седанова А.В.[1]
[1]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки*
Институт проблем переработки углеводородов
Сибирского отделения Российской академии наук,
644040, г. Омск, ул. Нефтезаводская, 54, e-mail: medugli@rambler.ru
[2]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки*
Институт неорганической химии им. А.В. Николаева
Сибирского отделения Российской академии наук,
630090, г. Новосибирск, проспект Академика Лаврентьева, д. 3

Разработка и получение биоспецифических сорбентов для удаления возбудителей инфекций из биологических жидкостей – является актуальной задачей современной биотехнологии и медицины. В настоящее время для биомолекулярного выделения, разделения и очистки патогенов (бактерий, вирусов, простейших и др.) из биологических сред широко используют сорбенты избирательного действия – модифицированные материалы с иммобилизованными на их поверхности биологическими активными веществами (биолиганды, ферменты, аминокислоты и др.).

Целью данного исследования является синтез амино-функционализованного фторуглеродного гемосорбента. Получение биоспецифического углеродного гемосорбента проводили в несколько этапов: 1) фторирование углеродного гемосорбента; 2) функционализация фторуглеродного гемосорбента аминогруппами; 3) синтез полиальбумина полимеризацией человеческого сывороточного альбумина с глутаровым альдегидом; 4) иммобилизация на поверхности амино-функционализованного фторуглеродного гемосорбента полиальбумина, способного к биоспецифическому взаимодействию с рецепторами некоторых вирусных частиц (поверхностный антиген гепатита В – HbsAg и др.).

Таким образом, создание биоспецифических сорбентов на основе амино-функционализованного фторуглеродного гемосорбента является новым перспективным направлением в биотехнологии для целей эфферентной терапии (подтверждено стендовыми медицинскими испытаниями).

РАЗРАБОТКА СХЕМЫ ПОЛУЧЕНИЯ НОВЫХ ГИДРОФОБНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ L-КАРНИТИНА И АЦЕТИЛ-L-КАРНИТИНА

Серегина А.В., Себякин Ю.Л.
Московский государственный университет тонких химических технологий
им. М.В. Ломоносова,
119571, Москва, пр. Вернадского, 86, e-mail: c-221@yandex.ru

На сегодняшний день исследователи пытаются создать наиболее совершенные модели биологических мембран, чтобы в дальнейшем исследовать их свойства и возможность применения в медицинской практике. Основной структурный компонент мембраны – липидный бислой, который создает относительно непроницаемый барьер для большинства водорастворимых молекул.

Использование катионных аминокислот-содержащих липидов является перспективным и быстро развивающимся направлением. Было доказано, что такие соединения эффективны в качестве агентов трансфекции. Кроме того, увеличение положительного заряда на полярной части

амфифилов способствует эффективной компактизации генетического материала и облегчению взаимодействия с клеточной мембраной, а также более успешному переносу.

L-Карнитин, имеющий в своей структуре четвертичное аммониевое основание, теоритически перспективен для использования в качестве полярной части катионных амфифилов. Благодаря большому положительному заряду на азоте липосомы из амфифилов на основе карнитина предположительно должны хорошо себя зарекомендовать в качестве агентов для трансфекции.

Вданной работе была разработана схема получения гидрофобных производных L-карнитина и ацетил-L-карнитина; был осуществлен синтез дитетрадецил-N-(L-карнитил)-L-глутамата и дитетрадецил-N-(ацетил-L-карнитил)-L-глутамата; были исследованы свойства агрегатов, созданных на основе полученных соединений, исследована зависимость этих свойств от структурных компонентов данных соединений.

DEVELOPMENT OF LIPOSOMAL AND EMULSION DRUG DELIVERY SYSTEMS BASED ON HYDROPHOBIC DERIVATIVES OF L-CARNITINE AND ACETYL-L-CARNITINE

Seregina A.V., Sebyakin Yu.L.
Moscow State University of Fine Chemical Technology named after M.V.Lomonosov
119571 Moscow, pr.Vernadskogo, 86, e-mail: c-221@yandex.ru

Today, the researchers are trying to create the most advanced models of biological membranes to further investigate their properties and possible applications in medical practice. The main structural component of the membrane is lipid bilayer, which provides a relatively impermeable barrier to most water-soluble molecules.

The use of cationic amino-containing lipids is a promising and rapidly developing field. It was shown these compounds are effective agents for gen delivery. In addition, the increase of the positive charge on the polar part of the amphiphiles contributes to efficient compaction of the genetic material, and facilitate interaction with the cell membrane, as well as the successful transfer.

L-Carnitine has the quaternary ammonium compound in the structure, which is theoretically promising for use as part of the polar cationic amphiphiles. Due to the positive charge on the nitrogen the liposomes based on amphiphiles carnitine would be expected to give a good account of itself as an agent for transfection.

In the Data work a scheme of obtaining hydrophobic derivatives of L-carnitine and acetyl-L-carnitine is present, ditetradetsyl-N-(L-carnityl)-L-glutamate and ditetradetsyl-N-(acetyl-L-carnityl)-L-glutamate has been synthesized , the properties of aggregates that are based on the compounds were studied; dependence of these properties were investigated of the structural components of these compounds.

МЕТОД БЫСТРОЙ И ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОПАСНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ ПО МОЛЕКУЛЯРНЫМ БИОМАРКЕРАМ

Шляпников Ю.М., Морозов В.Н.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт теоретической и экспериментальной биофизики
Российской академии наук
142290, г. Пущино, Московская обл., ул. Институтская, 3

Одним из эффективных способов выявления опасных бактериальных патогенов является обнаружение их биомаркёров, в частности, бактериальных токсинов. Бактериальные инфекции,

а также отравление секретируемыми бактериями токсинами являются основными причинами заболеваний, нередко приводящих к летальному исходу. Так, значение LD50 холерного токсина составляет 250 мкг/кг. Кроме того, токсины особо опасных патогенов могут быть использованы в качестве биологического оружия.

Для проведения экспресс-анализа биотоксинов нами разработан метод, позволяющий за несколько минут надежно определять несколько аналитов в одной пробе. Чрезвычайно высокую чувствительность обеспечивают активный транспорт молекул биотоксинов к поверхности микрочипа на основе электропроводящей мембраны под действием электрического поля, а также метод детекции сигнала путем сканирования поверхности микрочипа суперпарамагнитными частицами в магнитном поле. Иммуноанализ включает три стадии: электрофоретический сбор биотоксинов на микрочипах, связывание токсинов с детектирующими антителами, меченными биотином, детекцию биотиновой метки магнитными частицами, покрытыми стрептавидином. Показано, что новая тест-система детекции бактериальных токсинов позволяет получить наивысшую чувствительность при определении холерного токсина, термолабильного энтеротоксина *E. coli,* стафилококковых энтеротоксинов А и В, а также токсина синдрома токсического шока: пределы детектирования не превышают 1 пг/мл в продуктах питания и 0,1 пг/мл в воде из различных источников. Время анализа составляет около 10 минут. По совокупности таких параметров как чувствительность, время анализа и его стоимость, разработанная технология не имеет мировых аналогов. Моноклональные антитела получены в ИБХ и ФИБХ РАН и любезно предоставлены академиком Е.В.Гришиным.

RAPID ULTRA-SENSITIVE ASSAY OF BACTERIAL TOXINS FOR DIAGNOSTICS OF HAZARDOUS PATHOGENS

Y.M. Shlyapnikov, V. N Morozov
Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences, Pushchino, 3 Institutskaya str., Moscow region, Russia 142290

An efficent technique for detection of bacterial pathogens is relied on discovery of their biomarkers – bacterial toxines. Bacteral infections as well as poisoning of food by tiny amounts of toxins secreted from some bacterias cause severe diseases and intoxiaction with potentially lethal outcome. Thus, LD50 of cholera toxin is only 250 µg/kg. Besides casual poisoning by consuming of spoiled food certain hazardous toxins might be employed as a biological weapon. In all cases the detection and identification of toxins should be made quickly and with high sensitivity.

Aiming at this challenge we have developed an express technique for detection of biotoxins which allows to reliably detect several toxins in one probe within a few minutes. Extremely high sensitivity and assay speed of the new method is based on active electrophoretic capturing of biotoxins on a microarray of primary antibodies followed by rapid active labeling the captured toxins with secondary biotinilated antibodies. Final third stage of the assay includes detection of captured toxins by scanning the microarray surface with magnetic beads coated with streptavidin molecules. The whole assay without preparation of probes takes about 10 minutes. It has been demonstrated that the limit of detection (LOD) of the new test system in the detection of cholera toxin, enterotoxins A and B, toxic shock syndrome toxin and heat-labile toxin of *E. coli* is below 1pg/mL in food samples and ~0.1 pg/ml in water samples. By combination of LOD and the assay speed the new assay technology outperforms all the reported and commercial methods.

Monoclonal antibodies to toxins manufactured in IBCh and FIBCh RAS were kindly provided by Acad. E.V. Grishin.

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ЛИПОСОМ ИЗ ФОСФОЛИПИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ

Шульга С.М., Глух И.С., Данилов В.И.[1]
ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики» НАН Украины,
Киев, ул. Осиповского, 2а, Киев-123, 04123, Украина, тел.: +38 (044) 434-45-77
[1]*Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины*
E-mail: Shulga5@i.ua

Создание искусственных липосомальных мембран является одним из перспективных направлений современной нанобиотехнологии. Исследованы свойства липосом, которые отвечают за иммобилизацию белков, диффузию и перенос биологически активных соединений с помощью методов молекулярной динамики. Изучен механизм формирования липосом из липидного бислоя в среде с растворителем (водой). Создана модель стабильной липосомальной структуры и изучены различные свойства фосфолипидов в липосоме.

Проведены исследования «антирадикальных» и «антиоксидантных» свойств лецитина из подсолнечника и его компонентов (фосфатидилхолина, фосфатидилэтаноламина и других фосфолипидов). Исследована реакционная способность лецитина из масла семян подсолнечника и его компонентов по отношению к реакционной способности кислорода и других свободных радикалов. Высокая реакционная способность кислорода и перекисных радикалов липидов возникает в живых клетках в процессе окисления и изменяет протекание ряда жизненноважных биохимических реакций.

Существует потребность в новых антиоксидантах и антирадикальных агентах, которые могут быть использованы *in vivo* для подавления свободных радикалов. Новые продукты из семян подсолнечника реагируют со свободными радикалами и могут выступать эффективными антиоксидантными агентами.

MULTISCALE MOLECULAR SIMULATION AND EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF SUNFLOWER PHOSPHOLIPIDS LIPOSOMES USING FOR SCAVENGING FREE RADICALS

Shulga S. , Glukh I., Danilov V.[1]
SO "Institute of Food Biotechnology and Genomics" of NAS of Ukraine,
2a, Osypovskogo str., 04123, Kyiv-123, Ukraine
E-mail: Shulga5@i.ua

Creating artificial membrane liposomes is one of the promising areas of modern nanobiotechnology. The membrane properties of the liposomes can be responsible for immobilization of protein, diffusion and transport of bioactive compounds by using simulations based on molecular dynamics methods. The formation mechanism of liposomes with lipid bilayer in a medium with a solvent (water) will be elucidated by the molecular simulations.

The research devoted to «antiradical» and «antioxidant» properties of the sunflower lecithin and its components such as phosphatidylcholine, phosphatidylethanolamin and other phospholipids will be undertaken. This reactivity of lecithin from seed sunflower oil and its ingredients, towards reactive oxygen species and other free radicals were study. Highly reactive oxygen and lipid peroxyl radicals are produced in living cells in course of aerobic metabolism and are involved in a number of life sustaining biochemical processes. There is a demand for new antioxidants and antiradical agents, which may be used *in vivo* for scavenging free radicals. The new products from sunflower seeds are expected to be able to react with free radicals and can be efficient antioxidant agents.

ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ КРАХМАЛОМ

Сосенкова Л.С.[1,2], **Суетина И.А.**[3], **Егорова Е.М.**[1,2], **Подчерняева Р.Я.**[3]
[1]*ФГБУ НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, Россия*
[2]*Научно-производственная компания «Наномет», Москва, Россия*
[3]*ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздрава РФ, Москва, Россия*

Для безопасного применения наночастиц серебра в медицине и биологии важно обеспечить условия синтеза, при которых их токсичность отсутствует или пренебрежимо мала по сравнению с лечебным эффектом. Ранее мы сообщали о получении наночастиц серебра восстановлением ионов серебра биофлавоноидом кверцетином в водном растворе растворимого картофельного крахмала, используемого в качестве стабилизатора [1]. В настоящей работе приводятся основные результаты оценки цитотоксичности полученных таким образом наночастиц серебра в экспериментах на культуре фибробластов эмбриона человека (линия ФЭЧ-Т) с помощью известного МТТ-теста, отражающего уровень функциональной активности митохондриальных ферментов. Более полные сведения даны в [1].

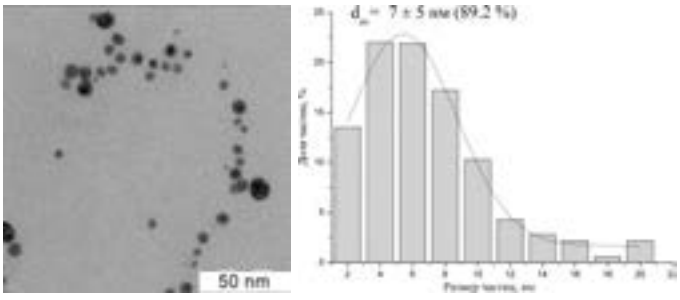


Рис. 1. Микрофотография наночастиц серебра и гистограмма распределения частиц по размерам.

На рис.1 показаны электронная микрофотография наночастиц и их распределение по размерам в водном растворе. По зависимости эффекта от концентрации наночастиц в интервале разведений исходного раствора наночастиц 1/200 – 1/5 определены их порог токсичности (концентрация, начиная с которой наблюдается токсический эффект) и летальные концентрации. Порог токсичности составляет 1.08 мкгAg /мл. Летальный эффект наблюдается при концентрациях, превышающих 5,4 мкгAg /мл. Отсюда следует, что сублетальные концентрации наночастиц лежат в интервале 1.08 – 5.4 мкг/мл. При этом выбранный нами стабилизатор не оказывает угнетающего действия на клетки при всех исследованных концентрациях наночастиц.

1. Л.С. Сосенкова, Е.М. Егорова, Р.Я. Подчерняева, И.А. Суетина //Нанотехнологии и охрана здоровья. 2013. Т.1 (в печати).

CYTOTOXICITY OF SILVER NANOPARTICLES STABILIZED BY STARCH

Sosenkova L.S.[1,2], **Suetina I.A.**[3], **Egorova E.M.**[1,2], **Podchernyaeva R.Ya.**[3]
[1]*Institute of general pathology and pathophysiology RAMS,*
Baltijskaya st., 8, 125315 Moscow, Russia;
[2]*Science-technology Company "Nanomet", Moscow, Russia;*
[3]*D.I. Ivanovsky Institute of Virology, Ministry of Health of Russian Federation,*
Moscow, Russia

For the safe use of silver nanoparticles in medicine and biology, it is important to provide the synthesis conditions which allow to obtain the nanoparticles with toxicity negligible compared to their

therapeutic effect. We have reported previously about the preparation of silver nanoparticles by the reduction of silver ions with bioflavonoid quercetin in the water solution of soluble potato starch used as a stabilizer [1]. Here we present the main results of the cytotoxicity assessment of thus obtained silver nanoparticles in studies on the cultured human embryo fibroblasts (HEF-T line) by means of the well-known MTT test, which reflects the level of functional activity of the mitochondrial enzymes. Experimental details are given in [1]. Figure 1 shows the electronic micrograph and size distribution histogram of the nanoparticles in water solution.

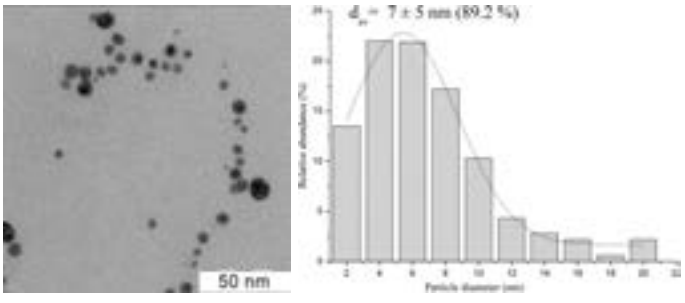


Fig. 1. Electron micrograph and particle size distribution of silver nanoparticles stabilized by soluble starch.

From the nanoparticles' concentration dependence of the effect in the range of dilutions of the nanoparticles stock solution 1/200 - 1/5 the toxicity threshold (the concentration corresponding to the first signs of toxic effects) and lethal concentrations were found. The toxicity threshold was 1.08 µgAg/ml. The lethal effect was observed at concentrations exceeding 5.4 µgAg/ml. Hence follows that sublethal nanoparticles concentrations lie in the range 1.8 - 5.4 µg/ml. It was found also that the stabilizer used exerted no influence on the cells at all nanoparticles concentrations studied .

1. L.S. Sosenkova, E.M .Egorova, R.Ya. Podchernyaeva, I. A.Suetina // Nanotechnology and Health Protection. 2013. V.1. (in press).

СИНТЕЗ АСИММЕТРИЧНЫХ ДИЭФИРОВ L-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИДРОФОБНОГО БЛОКА КАТИОННЫХ ДИМЕРНЫХ АМФИФИЛОВ

Сумина А.М., Сарычев Г.А., Колоскова О.О., Себякин Ю.Л.
Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова,119571, Москва, проспект Вернадского, 86
e-mail: c-221@yandex.ru

Целью данной работы является синтез новых димерных амфифилов для последующего создания на их основе липосомальных систем доставки генетических и лекарственных материалов.

Ранее в нашей лаборатории были синтезированы катионные димерные амфифилы, состоящие из различных структурных блоков. Для моделирования гидрофобного фрагмента использовались симметричные диэфиры L-глутаминовой кислоты. Однако возникло предположение, что димеры, содержащие асимметричную гидрофобную компоненту могут обладать более высокой стабильностью и в то же время меньшим размером образуемых частиц.

Изначально был выбран синтез, проводимый по методике, аналогичной получению симметричных эфиров (схема 1). На заключительном этапе возникла проблема разделения реакционной массы и выделения целевого продукта из его смеси с симметричными диэфирами. Целевой продукт был выделен из реакционной массы с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

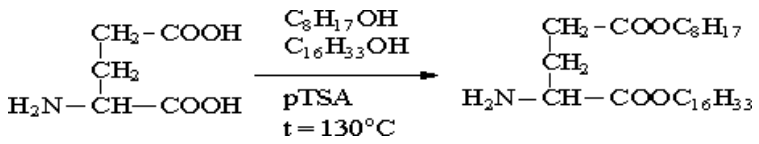


Схема 1

С целью сокращения энергетических и временных затрат на синтез ассиметричных диэфиров, нами была предложена ещё одна схема на основе L-глутаминовой кислоты с защитными группами разной природы. Поэтапное присоединение гидрофобных цепей и удаление защитных групп позволяет селективно получить целевой продукт и значительно облегчает его очистку от побочных продуктов и непрореагировавших веществ.

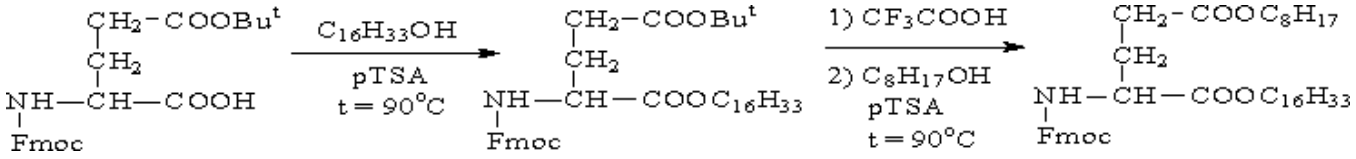


Схема 2

Структура полученных соединений была подтверждена данными ИК- и ^{1}H-ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. В дальнейшем полученное соединение будет использоваться в качестве гидрофобной компоненты в синтезе катионных димерных амфифилов.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 11-04-01618)

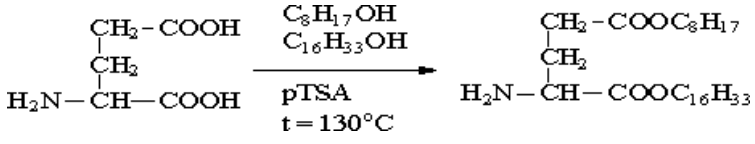
SYNTHESIS OF ASYMMETRIC DIESTERS OF L-GLUTAMIC ACID FOR MODELLING THE HYDROPHOBIC BLOCK OF CATIONIC DIMERIC AMPHIPHILES

Sumina A.M., Sarychev G.A., Koloskova O.O., Sebyakin Y.L.
Lomonosov Moscow University of Fine Chemical Technology,
119571, Moscow, Russia, prospect Vernadskogo, 86
e-mail: c-221@yandex.ru

The aim of this work is the synthesis of new dimeric amphiphiles for creating liposomal delivery systems for genetic and medical materials based on them.

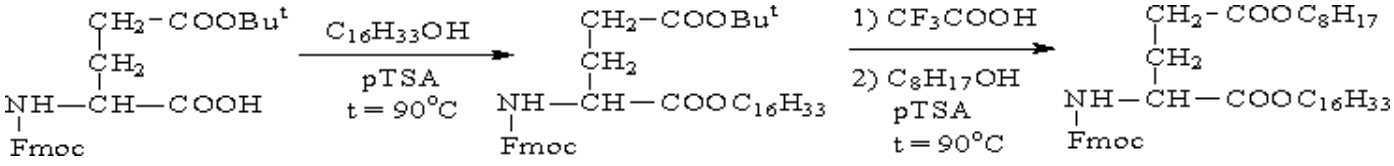
Previously we have synthesized dimeric cationic amphiphiles, consisting of various structural units. To model the hydrophobic fragment, the symmetric diesters of L-glutamic acid were used. However it was assumed that the dimers containing asymmetric hydrophobic component may have a higher stability and at the same time, the smaller size of the particles formed.

At first we selected synthesis conducted by the method similar to that obtained symmetrical ethers (Scheme 1). At the final phase there was a problem separating the reaction mixture and isolation of the product from its mixture with symmetrical diesters. The desired product was isolated from the reaction mixture by high performance liquid chromatography.



Scheme 1

In order to reduce the energy and time required for the synthesis of asymmetric diesters, we proposed another scheme based on L-glutamic acid with protecting groups of different nature. Gradual accession of hydrophobic chains and deprotection can selectively give the desired product and the increased ease of cleaning by-products and unreacted materials.



Scheme 2

The structure of the compounds was confirmed by IR and 1H-NMR spectroscopy and mass spectrometry. In the future, the resulting compound is used as the hydrophobic component in the synthesis of dimeric cationic amphiphiles.

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (grant № 11-04-01618)

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРАТЕГИЯ СИНТЕЗА КОМПЛЕКСА ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ТЕТРАБОРАТА НАТРИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МЕТОДОМ БОР-НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ

Успенский С.А.[1],Иванов П.Л.[1,2], Корякин С.Н.[3], Селянин М.А.[1], Ульяненко С.Е.[3], Хабаров В.Н.[1], Черкаев. Г.В.[2], Зеленецкий А.Н.[2]

[1]*АНО «Международный научно-исследовательский центр инновационных технологий МАРТИНЕКС», 111123, г. Москва, ул. 2-я Владимирская, д. 12, корп. 3*

[2]*ФГБУН Институт синтетических полимерных материалов РАН им. Н.С. Ениколопова, 117393, Москва, ул. Профсоюзная, д. 70.*

[3]*ФГБУ Медицинский радиологический научный центр Минздравсоцразвития, 249036, Калужская область, г.Обнинск, ул. Королева, 4*

В работе предложена новая концепция синтеза препаратов для борнейтронозахватной терапии (БНЗТ), которая заключается в образовании супрамолекулярной органонеорганической структуры. В качестве матрицы носителя используется гиалуроновая кислота (ГК), как биополимер, комплексующийся с полиборатами в результате ее твердофазного реакционного смешения с бурой на наковальне Бриждмина. ИК-спектрометрический анализ продуктов показал, что в результате твердофазных реакций ГК и полибораты, образуют сетку полихелатных комплексов. Исходя из данных характеристических полос поглощения в ИК-спектрах по интенсивности, и положению все функциональные группы ГК связаны хелатными связями с бороксидной цепью при этом большой вклад вносит связь B-O-C. В этих структурах ГК выступает в качестве полидендатноголигандабороксидов. Эти комплексы очень устойчивы как в виде водных растворов, так и при введении invivo. Клинические исследования кинетики распределения в опухолевой ткани показали, что изучаемый препарат накапливаясь показывает содержание бора в опухоли более 55 мкг/г ткани при мольном соотношении ГК:Бор = 1:4, что соответствует условию для эффективной реализации БНЗТ. Для установления механизма и стехиометрии устойчивого связывания ГК – борат изучены модельные комплексы бура-сахароза с широким спектром содержания борас помощью метода ЯМР ^{13}C, ^{11}B и ^{1}H в воде. Установлено, что бораты реализует максимально полно свои связи с функциональными группами сахаров при мольном соотношении 2/1.

A NOVEL SUPRAMOLECULAR HYALURONAN/POLYBORATE SYSTEMS FOR TUMOUR TREATMENT OF BORON NEUTRON CAPTURE THERAPIES

Uspenskii S.A.[1], **Ivanov P.L.**[1,2], **KoryakinS.N.**[3], **SelyaninM.A.**[1], **UlyanenkoS.E.**[3], **KhabarovV.N.**[1], **CherkaevG.V.**[2], **ZelenetskiiA.N.**[2]
[1]*International Research Centre "Martinex", Russia*
[2]*Enikolopov Institute of Synthetic Polymeric Materials of Russian Academy of Sciences*
[3]*Medical Radiological Research Center, Russia*

In this research we proposed the novel approach to design the supramolecular organic/inorganic structures for boron neutron capture therapy. Hyaluronic acid (HA) was applied as the biological carrier, has emerged as a promising candidate for intracellular delivery of various therapeutic and imaging agents because of its innate ability to recognize specific cellular receptors that overexpressed on diseased cells. The preparation of the HA/polyboron complex was carried out by Solid-State Reaction Blending of hyaluronic acid and borax under the join action of pressure and shear deformation using Bridgman's anvils. The samples were obtained at different component ratio and conditions of treatment. At the first step, the ^{10}B isotope was transferred into borax by classical method with high transfer degree (up to 90 wt-%) then the HA/borax mixture was treated in solid state. According to the FTIR analysis of the obtained blend, the proton transfer between HA and polyboron led to the formation of polychelate complex between the components. Comparisons of the peak intensity showed the high content of B-O-C bond in the obtained blends which indicates that the functional groups of HA are bonded with polyborate as a chelate complex. In order to study the mechanism of complex formation and determine the stechiometry of stable chelate structure, the model complexes of the saccharose and borox at high content of boron were studied. Analysis of the model samples on the base of mono- and disaccharide by ^{13}CNMR showed that the equimolarsaccharoce/boron ratio allowed to form the complex with the highest content of chelate bond between the components. The study of rheological behavior of water solutions showed the change of the flow type at the same component ratio. The effectiveness of the obtained systems as a boron delivery system was tested *in vivo*. The determination of tissue boron concentration was carried out and showed that the hularonan/polyborate complex was selectively accumulated into tumor with concentrations of 55 mg/g for the complex at 1:4 component ratio.

МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫ ФЕРМЕНТ-МАГНЕТИТ НАНОКОМПЛЕКСЫ

Власова К.Ю.[1], **Абакумов М.А.**[1], **Головин Ю.И.**[1,3], **Сокольски М., Вишвасрао Х.**[2]
Клячко Н.Л.[1,2], **Кабанов А.В.**[,2]
[1]*Химический факультет, Московский государственный университет имени Ломоносова, 119992, Москва, Россия*
[2]*Университет Северной Кароины в Чапел Хилле,США*
[3]*Тамбовский государственный университет им. Державина,Тамбов,Россия*

Введение.

Магнитные наночастицы (МНЧ) обладают уникальными физико-химическими и магнитными свойствами. Они находят применение в различных областях, таких как доставка лекарств, гипертермия, магнитно-резонансная томография (МРТ), тканевая инженерия, и разделение смесей биологических объектов. «Тераностика» – новая отрасль медицины, возможности которой сочитают в себе одновременно, и доставку лекарства (терапия), и визуализацию патологических процессов (диагностика). Одной из платформ для создания тераностических систем являются МНЧ, в частности много работ посвящено разработке подобных систем, основанных

на иммобилизованных ферментах на поверхности магнитных частиц с помощью полимерного линкера.

Супероксиддисмутаза 1 (СОД1) является важным ферментом антиоксидантной защиты от активных форм кислорода, накапливающихся при гипоксии, вызванной недостатком кровообращения. В настоящее время основная работа с этим ферментом направлена на подготовку антиоксидантных нанокомплексов для терапии гипоксия-ассоциированных заболеваний (инфаркт, ишемический инсульт), и МНЧ являются наиболее подходящими для этой цели носителями.

Целью данной работы является получение аггрегационно устойчивых МНЧ с иммобилизованной на их поверхности СОД1 (МНЧ-СОД1) и изучение влияния магнитного поля (МП) на активность фермента и коллоидную стабильность МНЧ-СОД1.

Методы и материалы

СОД1 был иммобилизован на поверхности МНЧ с помощью ковалентного присоединения молекул СОД1 к МНЧ, покрытым БСА (МНЧ-БСА), а также с помщью электростатической сорбции на поверхности МНЧ, покрытых блок-сополимером полилизина-ПЭГ (ПЛЛ-ПЭГ). Для ковалентной модификации водные растворы EDC и NHS и раствор СОД1 (0,1M HEPES, pH 7,4) были добавлены к раствору МНЧ-БСА в PBS буфере. Электростатическую сорбцию проводили добавлением раствора СОД1 в 0,1 M HEPES (pH = 7,4) к МНЧ-ПЛЛ-ПЭГ. Очистку обеих систем от свободного фермента осуществляли путем центрифугирования через 100 kDa фильтры. Размер и поверхностный заряда наночастиц определяли с использованием DLS. Концентрацию железа определяли по реакции с натриевой соли 3 - (2-пиридил) -5,6-дифенил-1,2,4-триазин-4‘, 4’’-дисульфоновой кислоты. Активность фермента до и после действия магнитного поля с различными значениями напряжённости и времени инкубации измерялась по реакции ингибирования автоокисления пирогаллола.

Результаты

Размеры и ζ-потенциалы частиц МНЧ-БСА-СОД1 и МНЧ-ПЛЛ-ПЭГ-СОД1 составили 300 ± 4 и 112 ± 3 нм и -4,2 ± 0,3 и +27,0 ± 0,6 мВ, соответственно. МНЧ-БСА-СОД1 не показали изменения активности фермента после воздействия МП. В случае МНЧ-ПЛЛ-ПЭГ-СОД1 действие поля вызвало увеличение активности СОД1.

Заключение

Были получены стабильные формуляции, которые могут быть использованы как антиоксидантные тераностические препараты. В дальнейшем планируется изучить действие нанокомплекса СОД1-магнетит на жизнедеятельность клеток в условиях оксидативного стресса

Работа выполнена при поддержке министерства образования и науки РФ (грант № 11.G34.31.0004)

MAGNETIC REGULATED ENZYME-MAGNETITE NANOCOMPLEXES

Vlasova K.Y.[1], **Abakumov M.A.**[1], **Golovin Yu.I.**[1,3], **Sokolsky M.**[2], **Vishwasrao H.**[2], **Klyachko N.L.**[1,2], **Kabanov A.V.**[1,2]

[1]*Department of Chemistry,Lomonosov Moscow State University, 119992,Moscow,Russia*

Email of presenting author: vlasova_k.y@mail.ru

[2]*University of North Carolina at Chapel Hill,USA*

[3]*G.R.Derzhavin Tambov State University,Tambov,Russia*

Introduction

Magnetic nanoparticles (MNPs) possess unique physicochemical and surface properties. They find application in various areas such as drug delivery, hyperthermia, magnetic resonance imaging (MRI),

tissue engineering and repair, biochemical separations. “Theranostics” is a new area of medicine, which combines drug delivery (theraphy) and imaging of diseases (diagnostics). One of the bases for creating theranostic systems is MNPs. Many works are devoted to investigation of systems, that are based on immobilized on the MNPs surface enzymes.

Superoxide dismutase 1 (SOD1) is an important antioxidant defense enzyme working in cells exposed to reactive oxygen species (ROS). Nowadays, the mainstream of work with this enzyme is to prepare antioxidant theranostic formulations for treatment of ROS-associated desease (heart attack, stroke), and magnetic nanoparticles are the most appropriate platform for this aim.

The goal of our work is to get colloidal stable system of MNPs, covered with SOD1 on its surfaces (MNP-SOD1) and to study the effect of magnetic field application on the enzyme activity.

Materials and methods.

SOD1 immobilized by covalent binding of SOD1 molecules to MNP, coated with BSA (MNP-BSA) and by electrostatic sorbtion of SOD1 molecules on MNP, coated by polylysin-PEG block-copolymer (MNP-PLL-PEG). For covalent binding EDC and NHS solutions in DI water and SOD1 solution (0,1M HEPES, pH 7.4) were added to the MNP-BSA solution (PBS buffer). For non-covalent binding, SOD1 was immobilized on MNP-PLL-PEG by adding the solution of SOD1 in HEPES (pH=7.4) to MNP-PLL-PEG solution. The unbound enzyme in both systems was removed by centrifugation through 100kDa filters. The size and surface charge of the nanoparticles was determined using DLS. The concentration of iron was determined by the reaction with sodium salt of 3 - (2-pyridyl) -5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4 ‘, 4’’-disulphonic acid. Enzyme activity before and after magnetic field application was measured using pyrogallol autoxidation inhibition. The field intensity and time of incubation were varied.

Results

Sizes and ζ-potentials of particles of MNP-BSA-SOD1 and MNP-PLL-PEG-SOD1were 300±4 and 112±3 nm, -4,2 ±0,3 and +27,0±0,6 mV, respectively. MNP-BSA-SOD1 didn’t show changes in enzyme activity after MF application. MNP-PLL-PEG-SOD1 showed increase of enzyme activity after MF acting.

Conclusion

We obtained stable formulation that pretends to be antioxidant theranostic drug. In **future studies,** the effect of SOD1-magnetite complexes on cell viability at hypoxic conditions will be studied.

The study was supported by Russian Ministry of Science and Education (grant №11. G34.31.0004)

СТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЛИЗОЦИМА С ДЕКСТРАН СУЛЬФАТОМ В ВОДЕ

Журавлева И.Л., Антонов Ю.А.,
Институт Биохимической Физики им. Н.М. Эмануэля,
Российской Академии Наук.
Ул. Косыгина 4. 119334 Москва, Российская Федерация

Белки взаимодействуют с природными и синтетическими полиэлектролитами, приводя к образованию растворимых комплексов и гомплексных коацерватов [1]. Практическая значимость этих взаимодействий состоит в возможной иммобилизации и стабилизации ферментов в полиэлектролитных комплексах, и модификации сродства белок-субстрат. В данной работе исследуются взаимодействия между лизоцимом – основным глобулярным белком с молекулярным весом ~14.4 kDa, и отрицательно заряженной натриевой солью декстран сульфата (НДС), используя методы динамического светорассеяния, кругового дихроизма, флуоресценции, и спектороско-

пии поглощения в видимой области. Молекулы лизоцима образуют интерполимерные комплексы с НДС в воде во всем изученном диапазоне pH (от 4 до 7) и температур, ниже температуры денатурации белка. При весовой доли НДС в смеси, q<0.3 наблюдается образование нерастворимых комплексов, в то время как при q>0.3 обнаружено образование как нерастворимых, так и растворимых комплексов. Взаимодействие носит в основном электростатический характер, но образовавшиеся комплексы стабилизированы отчасти водородными связями и гидрофобными взаимодействиями. Комплексообразование приводит к частичной дестабилизации вторичной и локальной третичной структур белка и к стабилизации молекул лизоцима к термоагрегации при значениях q>0.9.

[1]Hartwell, L.H., Hopfield, J.J., Liebler, S., Murray, A. W. (1999). From molecular to modular cell biology. *Nature* 402 (6761): C47-C52.

STRUCTURAL INVESTIGATION OF THE INTERACTION BETWEEN LYSOZYME AND DEXTRAN SULPHATE IN WATER

Zhuravleva I.L., Antonov Y.A.
N.M. Emanuel Institute of Biochemical Physics,
Russian Academy of Sciences,
Kosigin Str. 4. 119334 Moscow, Russia

Proteins interact strongly with natural and synthetic polyelectrolytes lead to the formation of soluble complexes and complex coacervates [1]. The practical consequences of these interactions may include immobilization or stabilization of enzymes in polyelectrolyte complexes and the modification of protein-substrate affinity. This work studies interactions between lysozyme,- a globular basic protein characterised by MW of approx. 14.4 kDa. and negatively charged ыщвшгь ыфде ща dextran sulphate (DSS) using dynamic light scattering, circular dichroism, fluorescence, and absorption measurements. Lysozyme molecules are able to form interpolymeric complexes with DSS in water in all pH range studied (from 4 to 7) and the temperatures below its denaturation. At the low DSS/lysozyme weight ratio (q<0.3) formation of water insoluble interpolymer complexes was observed whereas at a high q values (q>0.3) both water insoluble and water soluble complexes small in size were registered. Interaction is mainly electrostatic one but the complexes obtained stabilized partially by secondary forces (hydrophobic and hydrogen bonds). Complex formation leads to partial destabilization of the secondary and local tertiary structure of lysozyme and stabilization of the lysozyme molecules against thermo aggregation at q>0.9.

[1]Hartwell, L.H., Hopfield, J.J., Liebler, S., Murray, A. W. (1999). From molecular to modular cell biology. *Nature* 402 (6761): C47-C52.

ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ВОДНОЙ СУСПЕНЗИИ НАНОДИСПЕРСНОГО ДИОКСИДА КРЕМНИЯ, СИНТЕЗИРОВАННОГО МЕТОДОМ ЖИДКОКРИСТАЛИЧЕСКОГО ТЕМПЛАТИРОВАНИЯ

Зайцева Н.В.[1], Землянова М.А.[1], Звездин В.Н.[1], Саенко Е.В.[2]
[1]*ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», 614045, г.Пермь, ул. Орджоникидзе, 82*
[2]*Институт технической химии Уральского отделения РАН, г.Пермь, 614013, Академика Королева, 3*

Несмотря на неоспоримые инновационные качества, наноматериалы в силу особых физико-химических свойств могут представлять определенную угрозу для здоровья и безопасности человека. Одним из таких продуктов является наноразмерный диоксид кремния, который перспективно может быть использован для направленной доставки лекарственных соединений. В связи с прогнозируемым использованием нанодисперсного диоксида кремния в медицинской отрасли актуальным является изучение токсичности водной суспензии данного соединения при пероральном поступлении в организм для разработки гигиенических нормативов.

Токсиколого-гигиеническая оценка выполнена на примере водной суспензии нанодисперсного диоксида кремния, синтезированного методом жидкокристаллического темплатирования. Синтезированные частицы имели эллипсовидную форму, форм фактор – 3, размер в меньшей из осей составил 25-35 нм. Оценка потенциальной опасности в соответствии с МР 1.2.2522-09 позволила установить, что синтезированные частицы являются опасными для здоровья человека. Результаты исследования острой токсичности на нелинейных мышах самцах позволили заключить, что при однократном внутрижелудочном введении водной суспензии нанодисперсного диоксида кремния LD50 составляет 4638 мг/кг, что позволяет отнести исследуемый продукт по данному критерию к 3 классу опасности. Таким образом, для оценки возможности использования исследуемого продукта необходимо уточнение параметров токсичности при хроническом воздействии при пероральном поступлении.

TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC SAFETY ASSESSMENT OF THE AQUEOUS SUSPENSION OF NANO-DISPERSED SILICON DIOXIDE, SYNTHESIZED USING LIQUID-CRYSTAL TEMPLATING

Zaitseva N.V.[1], Zemlyanova M.A.[1], Zvezdin V.N.[1], Sayenko Ye.V.[2]
[1]*FBSI "Federal Scientific Center for Medical and Preventive Health Risk Management Technologies", 82 Monastyrskaya St, Perm 614045*
[2]*Institute of Technical Chemistry, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 3 Akademika Koroleva St, Perm 614013*

Despite their undeniable innovative characteristics, nano-materials may be hazardous to human health and safety due to their specific physicochemical properties. One of such products is nano-sized silicon dioxide, which can be promisingly used in targeted drug delivery. Since nano-dispersed silicon dioxide is forecast to be used in medicine, the investigation of the toxicity of this compound's aqueous suspension for its oral intake to develop health standards is an urgent issue.

A toxicological and hygienic assessment was performed based on the aqueous suspension of nano-dispersed silicon dioxide, which had been synthesized using liquid-crystal templating. The synthesized particle had an elliptical shape, shape factor – 3, with a short axis size of 25-35 nm. The assessment of

the potential hazard in accordance with Methodical Guidelines 1.2.2522-09 identified that the synthesized particles are hazardous to human health. The assessment showed that the acute toxicity (LD50), produced by a single intra-gastric administration of the aqueous suspension of nano-dispersed silicon dioxide to outbred male mice, was 4638 mg/kg, suggesting that the studied product belongs to hazard category 3. Thus, to assess the opportunities of using this product, an investigation of toxicity parameters of chronic oral exposure is required.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

АНАЛИТИЧЕСКИЕ НАНОФИЛЬТРЫ ИЗ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИМЕРОВ

Михеев А.Ю., Морозов В.Н.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт теоретической и экспериментальной биофизики
Российской академии наук (ИТЭБ РАН).
142290, г. Пущино Московской обл. ул. Институтская, 3.

Существующие методы сбора аэрозолей, основанные на инерционном механизме осаждения – импакторы и циклоны, не могут обеспечить эффективное улавливание субмикронных частиц. Для анализа биологических наноаэрозолей (неинвазивных биомаркеров, бактерий и вирусов) мы предлагаем использовать водорастворимые нанофильтры. Волокнистые фильтры из поливинилпирролидона при поверхностной плотности 0,25 мг/см^2 и потоке 100 л/мин*см^2 обеспечивают 99%-ю эффективность сбора любого биологического материала, имеющегося в воздухе. Собранный на фильтре материал можно растворить в малом объёме буферного раствора – 10-100 мкл. Показано, что материал фильтра не ингибирует иммунохимические реакции и ПЦР, что делает возможным дальнейший анализ без предварительной очистки.

Наши исследования касались широкого спектра физических характеристик водорастворимых нанофильтров, таких как: (I) механическая прочность и модуль упругости в нормальном и поперечном направлениях, (II) электропроводность и диэлектрическая постоянная, (III) сопротивление потоку воздуха в широких пределах скорости потока, (IV) влияние влажности воздуха на хранение фильтров. Знание основных физических характеристик позволяет определить оптимальные условия использования нанофильтров.

ANALYTICAL FILTERS FROM WATER-SOLUBLE POLYMER

Mikheev A.Y., Morozov V.N.
Institute of Theoretical and Experimental Biophysics, Russian Academy of Sciences,
Pushchino, 3 Institutskaya str., Moscow region, Russia 142290

Conventional techniques for collection of aerosol particles based on inertial mechanism of aerosol capturing such as impactors and cyclones cannot effectively collect sub-micron particles. To solve the problem of analysis of nano-aerosol impurities, analysis of biological pathogens (viruses, toxins) and aersolized biomarkers of infections (bacterial DNA, viral RNA, etc.) we suggested use of water soluble nano-filters. We have developed a technology of manufacturing filters from polyvynylpirrolidone (PVP) nanofibers which collect 99% of all the micro- and nano-aerosol particles from the airflow of 100 L/min·cm^2 while having only 0.25 mg of the polymer per square cm of the filter surface. Such

small amount of polymer material allows dissolution of the collected sample in a small volume of buffer solution for further analysis by immunochemical and/or PCR-based assay techniques. It has been demonstrated that the presense of the PVP material in the probes does not interfere substantially with the assay procedures.

Our studies concerned a broad spectra of physical properties of the analytical water-soluble filters: (I) mechanical strength and elastic moduli in normal and lateral directions, (II) electric conductivity and dielectric constants, (III) resistance to airflow in the broad range of air velocity, (IV) effects of humidity on the filters performance and storage. Knowledge of these characteristics is essential for further practical applications of these filters and refinements of their characteristics.

ПРИМЕНЕНИЕ СУПЕР- И КВАНТОВЫХ КОМПЬЮТЕРОВ, КРИПТОГРАФИЧЕСКИХ И СТЕГАНОГРАФИЧЕСКИХ СИСТЕМ ДЛЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ НАНОТЕХНОЛОГИЙ И РАЗРАБОТКИ НАНОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ЭНЕРГЕТИКЕ, МЕДИЦИНЕ И ЭКОЛОГИИ

Раткин Л.С.
ООО «АРГМ», 119049, г. Москва, Ленинский проспект, д. 4, стр. 1А

Автором разработаны криптографические и стеганографические системы, применяемые на суперкомпьютерах для проектирования нанотехнологий и разработки наноматериалов для биотехнологических комплексов, используемых в ряде отраслей:

- энергетика (разработана методика оценки степени эффективности использования биотехнологий, учитывающая надежность, многофункциональность, мобильность, энергоемкость, долговечность, удобство в установке, обслуживании, демонтаже и транспортировке, а также нетоксичность и взрывозащищенность при монтаже, эксплуатации и утилизации);
- экология (разработана не только система минимизации экологических рисков на предприятиях ТЭК, но и математическая модель, позволяющая учитывать особенности реализации инновационных и инвестиционных проектов с международным участием в условиях вступления России в ВТО);
- медицина (разработана методика, позволяющая оценить степень применения разработок в сфере космических биотехнологий для геронтологии – удалось добиться положительной динамики в лечении ряда заболеваний благодаря внедрению разработок в повседневную практику и персонализированному подходу при лечении пожилых пациентов).

Имеется патент на изобретение без соавторов. Разработанные технологии могут применяться не только в суперкомпьютерах, но и в системах, использующих квантовые компьютеры в качестве сопроцессоров. На технологии получен зарубежный патент. За цикл научных разработок автор награжден Орденом Европейской академии естественных наук (г. Ганновер, ФРГ).

SUPERCOMPUTERS AND QUANTUM COMPUTERS, CRYPTOGRAPHIC AND STEGANOGRAPHIC SYSTEMS FOR PROJECTING OF NANOTECHNOLOGIES AND PRODUCING OF NANOMATERIALS FOR BIOTECHNOLOGICAL COMPLEXES FOR ENERGY, MEDICAL AND ECOLOGICAL APPLICATIONS

Rathkeen L.S.
«ARGM», 119049, Moscow, Leninskyi prospect, 4, bldg 1A

Author designed cryptographic and steganographic systems for supercomputers for projecting of nanotechnologies and producing of nanomaterials for biotechnologies complexes in different

spheres:

- energy applications (method for analyzing of degree of efficiency of biotechnologies based on reliability, multifunctional, mobility, capacity, safety in installing, servicing, remounting and transportation, non-toxic and explosive-protection during mounting, exploitation and utilization);
- ecology applications (system for minimization of ecological risks on energy and mathematical model for accounting results of realization of innovation and investment projects with international participant in the case of including of Russia into World Trade Organization);
- medical applications (methods for analyzing of degree of possibilities of space biotechnologies for gerontology – we see positive experience in rehabilitation of oldest people with this technologies and positive dynamics during medicine period when integration and personalization approach was realized).

Russian patent without coauthors is in active phase. Designed technologies may be used not only in supercomputers and supercalculating complexes, but in quantum computers which may be used in computer systems as coprocessors. Foreign patent on designed technologies is in active phase. For cycle of scientific works author was awarder by the Orden «Der Kreuz mit der Krone» of European academy of natural sciences (Hanover, Germany).

ФОСФОЛИПИДНО-ОЛЕАТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ ТРАНСПОРТА РИФАМПИЦИНА

Санжаков М.А., Торховская Т.И., Тихонова Е.Г., Прозоровский В.Н., Ипатова О.М.

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича»
Российской академии медицинских наук ,
119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10

Туберкулёз – широко распространённое заболевание, которое обострилось с кон-ца XX. Сложность и продолжительность терапии снижает эффективность приме-няемых средств. В настоящее время параллельно с поиском новых противотубер-кулёзных препаратов, проводятся исследования по улучшению сохранивших свою значимость лекарств. Таким лекарством, ключевым в терапии туберкулёза, является рифампицин. Показано, что снабжение его системами транспорта поло-жительно влияет на его фармакологические свойства и терапевтическое действие.

Нами разработана система транспорта для рифампицина на основе фосфоли-пидно-олеатных наночастиц с размером менее 30 нм. За счёт включения олеата удалось более чем в 2 раза повысить нагрузку лекарством. В лиофильно высушенном виде, удобном для хранения, получена композиция рифампицина в составе наночастиц, размер которых и степень встраивания лекарства не меняются после регидратации. Исследовано влияние наносистемы на токсичность, биодоступность, антимикобактериальную активность рифампицина *in vitro* и *in vivo*, в условиях генерализованного туберкулёза у мышей.

Согласно полученным данным, разработанная для рифампицина наносистема транспорта способствовала: 1) снижению его токсичности как при пероральном, так и при внутривенном введении; 2) увеличению более чем на порядок его биодоступности по сравнению со свободной формой; 3) повышению его активности против *Mycobacterium tuberculosis*, которое выражалось в уменьшении минимальной ингибирующей концентрации с 1 до 0,5 мкг/мл; 4) лучшему очищению поражённых лёгких от бацилл, о чём свидетельствовало снижение в 22 раза числа КОЕ в сравнении со свободным лекарством.

Таким образом, использование фосфолипидно-олеатной наносистемы транспорта для получения новой лекарственной формы рифампицина создаёт возможности для уменьшения его дозировки и побочных проявлений, что поможет улучшить качество и результаты лечения.

PHOSPHOLIPID-OLEATE NANOPARTICLES FOR RIFAMPICIN TRANSPORT

Sanzhakov M.A., Torkhovskaya T.I., Tikhonova E.G., Prozorovskiy V.N., Ipatova O.M.
Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of Russian Academy of Medical Sciences, 119121, Moscow, Pogodinskaya St., 10

Tuberculosis is widespread disease which became sharp from the end of XX, despite of the availability of effective methods of its treatment. The complexity and duration of therapy reduces the effectiveness of medicines applied. Currently, in parallel with the searches of new antituberculosis drugs, studies are carried out for improvement of relevant drugs. Rifampicin is such crucial among the tuberculosis therapy drug. Its supply with transport systems is shown to have a positive influence on its pharmacological properties and therapeutic effect.

We have developed a system for rifampicin transport based on phospholipid-oleate nanoparticles with diameter less than 30 nm. Oleate including allowed to increase drug loading more than 2-fold. A composition of rifampicin included into nanoparticles is prepared in the freeze-dried form suitable for storage. Particle size and degree of drug incorporation didn't change after rehydration. The influence of this nanoformulation on toxicity, bioavailability, antimycobacterial activity of rifampicin *in vitro* and that *in vivo*, in a generalized tuberculosis in mice, was investigated.

Results showed, that elaborated drug delivery nanosystem for rifampicin results in: 1) decrease of its toxicity both in peroral and in injectable administration, 2) more than 10-fold increase of its bioavailability as compared with free form, 3) increase of its activity against *Mycobacterium tuberculosis,* that revealed in decrease of minimal inhibiting concentration from 1 to 0,5 mkg/ml, 4) better infected lung clearance from bacilli – 22-fold decrease of colony forming units (CFU) as compared with free drug.

Thus, the usage of phospholipid-oleate drug delivery nanosystem for new rifampicin formulation allows to decrease drug doses and side effects, that will help to improve the quality and results of tuberculosis therapy.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ НОВОГО ПРЕПАРАТА ГЕМАКС

Джафаров М.Х., Заварзин И.В., Мирзаев М.Н., Воронин Е.С., Девришов Д.А., Мельницкая Т.И.
ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологий имени К.И.Скрябина», г. Москва, ул. Ак. Скрябина, 23

Авермектины, продуцируемые S. avermitilis, обладают широким спектром био-логической (антгельминтной, инсектицидной, акарицидной, противоопухолевой и др.) активности. С момента открытия в конце 70-х годов прошлого века до настоящего времени ведутся работы химической и биосинтетической модификации авермектинов с целью получения более пригодных для ветеринарии, медицины и сельского хозяйства форм. Таким образом, были разработаны ивермектин и эпринометин путем гидрирования 22,23-двойной связи и ацетоаминирования

в положении 4''-гидроксигруппы нативного авермектина B1 соответственно; внедрены и другие производные авермектинов.

В основе разработанного нами нового препарата гемакс лежит 5-О-сукцино-илавермектин B1.Соединение 5-О-сукциноилавермектин B1 синтезирован в мягких условиях из природного авермектина B1 (с содержанием компонента B1a не менее 90%) в результате его ацилирования ангидридом янтарной кислоты в среде органического растворителя и в присутствии катализатора аминного типа практически полным выходом по разработанному нами способу. Авермектин B1 является легкодостпупным коммерческим продуктом. В качестве ацилируемо-го авермектина предусмотрено также использование отечественного продукта, получаемого на основе разработанной нами технологии биосинтеза, проводимого с помощью штамма S. avermitilis ВНИИСХМ –56.

Кроме гемисукцината авермектина препарат гемакс содержит органические растворители, воду и дополнительные ингредиенты (точный состав ингредиентов будут опубликованы в соответствующем патенте).

Экспериментальные партии различных форм препарата гемакс и проходят успешные производственные испытания в разных регионах РФ.

TECHNOLOGICAL ASPECTS OF THE SYNTHESIS OF THE NOVEL DRUG GEMAX

Dzhafarov M. Kh., Zavarzin I.V., Mirzaev M.N., Devrishov D.A., Melnitskay T.I.
Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin, Moscow, Ak. Skriabini str, 23

Avermectins produced by soil bacteria of the S. avermitilis species possess a wide spectrum of biological (anthelmintic, insecticidal, acaricidal, antitumor, and etc.) activities. From the moment of their discovery in the late 1970s, the works on the chemical and biosynthetic modification of avermectin B1 have been carried out for three decades aimed at obtaining forms most appropriate for veterinary, medicine, and agriculture. Ivermectin and eprinomectin were thus synthesized by the hydrogenation of the 22,23-double bond and acetoamination in position 4'' of the hydroxyl group of native avermectin B1, respectively; other avermectin derivatives were also put in manufacturing.

The Gemax drug developed by us is based on 5-O-succinoylavermectin B1. Compound 5-O-succinoylavermectin B1was synthesized under mild conditions from natural avermectin B1 (the content of the B1a component is at least 90%) as a result of its acylation with succinic anhydride in a medium of an organic solvent and in the presence of a catalyst of the amine type in an almost quantitative yield following the method developed by us. Avermectin B1 is an easily accessible commercial product. We also provided the use of the domestic product prepared by the fermentation of strain S. avermitilisVNIISKhM–56, which is cultured under the corresponding conditions, as acylated avermectin.

Along with avermectin hemisuccinate (the content of the active substance is 1.5%), the Gemax drug contains the solvent (isopropyl alcohol), water, and additional ingredients (an exact composition of the ingredients will be published elsewhere (in the corresponding patent)).

An experimental batch of Gemax was obtained, and its industrial field tests were carried out in various regions of the Russian Federation.

ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОКОНСТРУКЦИИ АНТИГЕНОВ ВИРУСА ГРИППА

Зайцева Е.С., Титова Т.Г., Петровский С.В., Москвичев Б.В.
Федеральное государственное унитарное предприятие
«Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт
вакцин и сывороток и предприятие по производству бактерийных препаратов»
Федерального медико-биологического агентства
198320 Санкт-Петербург, г. Красное село, ул. Свободы д.52

Проведена химическая модификация антигенов (Ag) вируса гриппа штамма B/Florida/04/2006 с помощью частично окисленного декстрана (Д).

Химическую модификацию Ag вируса гриппа проводили при разных молярных соотношениях Ag и Д в реакционном растворе (Ag:Д) – 1:10; 1:20; 1:40; 1:100, при степени окисления Д – 20%. Иммуногенность модифицированного антигена ($Ag^{хим.мод}$) вируса гриппа, проверяли на беспородных белых мышах весом 10-12 г. В качестве контрольного образца использовали Ag вируса гриппа B/Florida/04/2006 с полиоксидонием (ПО) в соотношении Ag : ПО – 1:20 (Таблица №1).

Таблица №1 − Условия химической модификации образцов и характеристики модифицированного антигена

Состав и свойства исходного реакционного раствора		Характеристика модифицированного антигена	
№ п/п	Ag:Д моль/моль	Ag:Д моль/моль	Средние титры антител
1*	1:0	1:0	584 ± 248
2	1:10	1:16	704 ± 212
3	1:20	1:28	416 ± 152
4	1:40	1:29	342 ± 82
5	1:100	1:20	168 ± 51

*Примечание: 1*является контролем – исходный образец КСЕ с полиоксидонием в соотношении Ag : ПО – 1:20.

Для Ag хим·мод при помощи Д в соотношении 1:10, установлено значение среднего титра специфических антител, в сыворотке крови иммунизированных животных близкое по значению к Ag в присутствии полиоксидония при соотношении 1:20. При дельнейшем увеличении количества молей Д на 1 моль Ag наблюдалось снижение титра специфических антител.

POLYMER NANOCONSTRUCTS ANTIGENS OF INFLUENZA VIRUS

Zaitseva T.S., Titova T.G., Petrovsky S.V., Moskvichev B.V.
Federal State Unitary Enterprise (FSUE)
«Saint Petersburg Research Institute of Vaccines and Sera & Enterprise
for Production of Bacterial Preparations»
of the Federal Medico-Biological Agency, St. Petersburg, Russia

Followed by chemical modification of antigens (Ag) influenza virus strain V/Florida/04/2006 with partially oxidized dextran (D).

Chemical modification of Ag the influenza virus was carried out at different molar ratios of Ag and D in the reaction solution (Ag: D) – 1:10, 1:20, 1:40, 1:100, with oxidation D – 20%. Immunogenic properties of the modified antigen ($Ag^{Chem.Modes}$) influenza virus were examined for outbred white mice

weighing 10-12 g, as a control sample used Ag influenza V/Florida/04/2006 with polyoxidonium (PO) in the ratio Ag: IN – 1 20 (Table 1).

Table 1 Conditions of chemical modification patterns and characteristics of the modified antigens.

The composition and properties of the solution of the reaction source		Feature antigenamodifitsirovannogo	
№ п/п	Ag:Д mol / mol	Ag:Д mol / mol	Mean antibody titers
1*	1:0	1:0	584 ± 248
2	1:10	1:16	704 ± 212
3	1:20	1:28	416 ± 152
4	1:40	1:29	342 ± 82
5	1:100	1:20	168 ± 51

Note: 1 * is control – the original sample with KSE polyoxidonium in the ratio Ag: ON – 1:20.

For Ag chim·mod with D in the ratio of 1:10, set the average titer of specific antibodies in the serum of immunized animals are close to this in the presence of Ag polyoxidonium at 1:20. With sensible increase in the number of moles of A to 1 mol of Ag there was a reduction of specific antibody titer.

ВЛИЯНИЕ МИНОРНЫХ САХАРОВ НА СИНТЕЗ И СТРУКТУРУ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

Корнеева О.С., Черемушкина И.В.

ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», 3
94000 г. Воронеж, пр. Революции 19

Большая нагрузка на иммунную систему и рост заболеваний, связанных с ее нарушением, вызывает необходимость поиска новых веществ с иммуностимулирующим действием. Гетероолигосахаридные цепи иммуноглобулинов содержат в основном остатки таких гексоз, как галактоза, манноза, фукоза. Химический состав иммуноглобулинов более или менее установлен, структура определена только у ряда из них.

Подход к идентификации первичной структуры белка был рассмотрен на примере модельных иммуноглобулинов типа G. Оптимизированный метод анализа структуры иммуноглобулинов с помощью масс-спектрометрии, в том числе, их углеводной составляющей, позволяет проводить исследования без выделения иммуноглобулинов из сложной смеси.

Идентификация белкового состава смесей сывороточных иммуноглобулинов опытных животных, полученных до искусственной инициации дисбиоза, в процессе заболевания, а также после лечения с введением в рацион маннозы позволила выявить содержание кроме набора иммуноглобулинов класса G смеси до 20 примесных белков иной природы.

Установлено, что качественный состав структур иммуноглобулинов существенно меняется после применения маннозной диеты. Появляется четыре новых варианта тяжелых цепей и десять новых вариабельных фрагментов легких.

Значительное увеличение (до 48%) числа сиалированных фрагментов в иммуноглобулиновой фракции у опытных животных после маннозной диеты косвенно свидетельствует об увеличении устойчивости сывороточных белков к клиренсу.

Для более точной интерпретации полученных результатов дальнейшие исследования направлены на установление мест локализации сиалированных гликанов в белках опытных образцов.

Работа выполняется в рамках гранта РФФИ № 12-08-01234-а.

THE INFLUENCE OF THE MINOR SUGARS ON THE SYNTHESIS AND STRUCTURE OF IMMUNOGLOBULINS

Korneeva O.S., Cheremushkina I.V.
FSBEI HPE «Voronezh State University of Engineering Technologies»,
19 Revolution Avenue Voronezh 394000

A large load on the immune system and the increase in diseases connected with its violation cause the necessity to search for new substances with the immunostimulating effect. Heterooligosaccharide chains of immunoglobulins mostly contain hexoses residues such as galactose, mannose, fucose. The chemical composition of immunoglobulins has been more or less found, the structure only of some of them has been revealed.

The approach to the identification of the primary structure of the protein has been considered on the example of model immunoglobulins Type G. The optimized method of analysis of the immunoglobulins structure by means of mass-spectrometry, including their carbohydrate component, allows to carry out the research not extracting immunoglobulins from the complex mixture.

The identification of the protein composition of mixtures of serum immunoglobulins of experimental animals obtained prior to the artificial initiation of dysbiosis, in the course of the disease, as well as after the treatment with the introduction of mannose into the diet has allowed to reveal the content of up to 20 impurity proteins of a different nature except for the set of immunoglobulins of G-class mixtures. It has been discovered that the qualitative composition of immunoglobulins structures considerably changes after the application of the mannose diet. Four new variants of heavy chains and ten new variable fragments of the lungs appear.

A significant increase (up to 48%) in the number of sialized fragments in the immunoglobulin faction in the experimental animals after mannose diet indirectly testifies to the increase in the stability of serum proteins to the clearance.

For a more accurate processing of the results the further research is directed to the discovering places of localization of sialized glicans in protein samples.

The research is carried out in the framework of the grant RFBR № 12-08-01234-a.

ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КУЛЬТУР КЛЕТОК MDCK, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ РАЗНЫХ КОЛЕКЦИЙ, К ВИРУСУ ГРИППА A/17/КАЛИФОРНИЯ/2009/38(H1N1)

Герасименко Н.Б.,Радаева И.Ф., Нечаева Е.А., Руденко Л.Г.[1]
ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»,р.п. Кольцово, Новосибирская обл., Россия
[1]*НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН, г. Санкт-Петербург, Россия*

Грипп является массовым инфекционным заболеванием с высоким уровнем смертности, наносящим большой экономический ущерб. Самым эффективным методом снижения количества инфицированных является вакцинация. Вакцины, приготовленные на культурах клеток Vero и MDCK, лицензированы для сезонной профилактики гриппа в Европе и США. Российских аналогов культуральных вакцин против гриппа на фармацевтическом рынке нет. ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» совместно с НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН разработана технология производства живой гриппозной вакцины «Вектор – Флю» на основе клеток MDCK и вакцинного штамма A/17/Калифорния/2009/38(H1N1) вируса гриппа, культивируемых в бессывороточных питательных средах в биореакторах. Целью исследования стало изучение чувствительности культуры клеток MDCK, полученных из разных коллекций, к вакцинному штамму вируса гриппа с целью получения наибольшего выхода вирусного материала.

Была изучена чувствительность культур клеток MDCK, полученных из коллекций ATCC

(США), Flow Laboratories (Англия), Института Пастера (Франция), НИИ гриппа РАМН, ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», к вакцинному штамму вируса гриппа А/17/Калифорния/2009/38(H1N1), полученному из НИИ экспериментальной медицины СЗО РАМН. Клетки MDCK культивировали в культуральных флаконах объемом 25 см2 в питательной среде Игла МЕМ производства «Института полиомиелита и вирусных энцефалитов», содержащей 5% сыворотки крупного скота и 0,05 г/мл антибиотика гентамицина. После образования монослоя клетки заражали вирусом гриппа А/17/Калифорния/2009/38(H1N1), множественность заражения составила 0,05 $ЭИД_{50}$/клетку. На 3-е сутки культивирования проводили сбор вируссодержащей жидкости, специфическую активность вируса определяли в реакции гемагглютинации и методом титрования в развивающихся куриных эмбрионах. В результате проведенных экспериментов установлено, что культуры клеток MDCK, полученные из Flow Laboratories (Англия) и Института Пастера (Франция), наиболее чувствительны к заражению вакцинным штаммом вируса гриппа А/17/Калифорния/2009/38(H1N1), и могут использоваться для получения вакцины.

SENSITIVITY STUDIES OF CELL CULTURES OF MDCK, DERIVED FROM VARIOUS COLLECTION, FLY VIRUS A/17/KALIFORNIYA/2009/38 (H1N1)

Gerasimenko N.B., Radaeva I.F., Nechaeva E.A., Rudenko L.G.[1]
Federal State Research Institution State Research Centre
of Virology and Biotechnology «Vector»,
Koltsovo, Novosibirsk Region, Russia
[1]*Research Institute of Experimental Medicine RAMS, St. Petersburg, Russia*

Influenza is a mass infection with high mortality, inflicting more economic damage. The most effective way to reduce the number of infections is vaccination. Vaccines prepared on Vero cell cultures and MDCK, licensed for the prevention of seasonal influenza in the U.S. and Europe. Russian counterparts culture influenza vaccines in the pharmaceutical market there. FBUN SRC VB "Vector" in cooperation with the Institute of Experimental Medicine RAMS technology of production of live influenza vaccine "Vector – Flew" based on MDCK cells and A/17/Kaliforniya/2009/38 vaccine strain (H1N1) influenza virus cultured in serum-free nutrient media in bioreactors. The aim of the study was to evaluate the sensitivity of the cell culture MDCK, from different collections to the vaccine strain of the influenza virus in order to obtain the highest yield of viral material.

We studied the sensitivity of the cell culture MDCK, derived from collections ATCC (USA), Flow Laboratories (UK), Institut Pasteur (France), the Institute of Influenza, FBUN SSC "Vector" to the vaccine strain of the influenza virus A/17/Kaliforniya/2009 / 38 (H1N1), obtained from the Institute of Experimental Medicine RAMS. MDCK cells were grown in culture flasks of 25 cm 2 in the medium MEM Eagle production of "Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitis", containing 5% serum of cattle and 0.05 g / ml of the antibiotic gentamicin. After the formation of a monolayer of cells infected with influenza virus A/17/Kaliforniya/2009/38 (H1N1), the multiplicity of infection was 0.05 EID50/kletku. On the third day of cultivation were collected virus-containing fluid, the specific activity of the virus was determined in the haemagglutinin and titrated in the developing chick embryos. The experiments revealed that the cell culture MDCK, obtained from Flow Laboratories (UK) and the Institute Pasteur (France), the most susceptible to infection with influenza virus vaccine strain A/17/Kaliforniya/2009/38 (H1N1), and can be used for receiving the vaccine.

ВЫЯВЛЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ ОРГАННЫХ ЭКСТРАКТОВ НА РОСТ КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КРЫСЫ (МСК КМ КРЫСЫ)

Косовский Г.Ю., Горбунова Е.А., Колмычкова К.И., Спиридонов А.В., Футочкина В.А.
Государственное научное учреждение Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий Российской академии сельскохозяйственных наук г. Москва, e-mail: info@ceerb.ru 127422, г. Москва, ул. Костякова, д. 12 стр.4

В настоящее время в научной литературе находят свое отражение работы по исследованию влияния различных тканевых и органных экстрактов на скорость роста и пролиферативную активность эукариотических клеточных культур. Актуальным становится определение цитотоксического влияния аутентичных органных экстрактов на культуру.

При подготовке использована вода высокой очистки. Подготовка органов и проведение экстрагирование проводилось по оригинальной методике Центра, не противоречащей ГОСТ ИСО 10993-5-2009. Испытания цитотоксичности проведены методом прямого контакта в соответствии с ГОСТ ИСО 10993-5-2009. В отчете была отражена шкала цитотоксичности методом качественной оценки, где 0- «не цитотоксичный», а «3»-значительная цитотоксичность.

В результате исследования не выявлено цитотоксического действия на культуру в соотношениях сыворотки и экстракта 3/7, 5/5, 7/3, 2/8, 1/9 возможно это связано со стабилизирующем действием FBS. Определено, что частичная замена FBS органными экстрактами (до 10% FBS), практически не оказывает негативного влияния на культуру клеток, но в значительной степень удешевляет процесс культивирования МСК КМ крысы.

При общем процентном содержании экстрактов в культуральной среде 10% не выявлено цитотоксическое действие экстрактов селезенки и семенников (цитотоксичность по шкале «0»). Отмечено положительно действие на пролиферативную активность клеток МСК КМ крысы этих экстрактов даже при полной замене доли FBS в культуральной среде.

IDENTIFICATION OF CYTOTOXIC EFFECTS OF THE AUTOLOGOUS ORGAN EXTRACTS ON RAT MESENCHYMAL STEM CELLS (RAT BM-MSC) GROWTH IN CULTURE

Kosovsky G.Y., Gorbunova E.A., Kolmychkova K.I., Spiridonov A.V., Futochkina V.A .
Centre of experimental embryology and reproductive biotechnology
Russian Academy of Agricultural Sciences
127422, Moscow, ul. Kostyakova, d. 12, str. 4, Russia
e-mail: info@ceerb.ru

There are several publications concerning investigation of the effects that various tissue and organ extracts have on growth speed and proliferation activity of the eukaryotic cell cultures in the present-day scientific literature. In this connection identification of cytotoxic effects of the autologous organ extracts on cell culture has become a topical issue.

Deionized water was used for the extraction. Preparation of rat's organs and carrying out of the extraction were conducted according to the original method developed in CEERB and did not contradict GOST ISO 10993-5-2009. Cytotoxicity tests were carried out using direct contact method according to GOST ISO 10993-5-2009. The qualitative rating scale of cytotoxicity, where rate 0 corresponded to "not cytotoxic" and rate 3 to "significantly cytotoxic", was displayed in the report.

There were no detectable cytotoxic effects of the extracts on the cell culture, when extracts and FBS were added to the culture medium in following ratios: 3:7, 5:5, 7:3, 2:8 and 1:9 (v/v). However,

these results could be attributed to the stabilizing action of FBS. It was determined that partial replacement of FBS by organ extracts (up to 90%) practically had no negative effects on cell culture and helped to reduce price of rat BM-MSC culture to the great extent.

No negative effect of pancreatic and testicular extracts on cell culture were detected (rate 0 on the cytotoxicity scale) when the culture medium was supplied with 10% of the extracts. It was also noted that proliferal activity of rat BM-MSC was affected positively even if FBS was fully replaced with these extracts in the culture medium.

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *BDNF* У ЖИТЕЛЕЙ МОСКВЫ

Кондратьева Н.С., Кокаева З.Г., Кочеткова Т.О., Афончикова Е.В., Климов Е.А.
Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,
биологический факультет, кафедра генетики,
119991, Российская Федерация, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр.12

Исследования последних лет показали, что нейротрофический фактор головного мозга (BDNF) может участвовать в патогенезе различных заболеваний центральной нервной системы, так как связан с пролиферацией, дифференцировкой и выживанием нейронов. Ген *BDNF* локализован в p14.1 хромосомы 11, включает 9 функциональных промоторов и 11 экзонов. Кодирующая функциональную часть белка последовательность находится в последнем экзоне. Ген экспрессируется в ноцицептивных сенсорных нейронах, модулируя работу метаботропных и ионотропных рецепторов глутамата.

Мутации в гене *BDNF* в различных популяциях ассоциированы с такими заболеваниями как *обсессивно*-компульсивное расстройство, болезнь Альцгеймера, анорексия, булимия, депрессивное расстройство, шизофрения (а также возраст её проявления), тревожное поведение, аутизм. В настоящее время обсуждается возможность участия BDNF в патогенезе мигрени. Целью данной работы являлся анализ частоты встречаемости трех указанных однонуклеотидных замен, расположенных в гене *BDNF*, методом ПЦР-ПДРФ на случайной выборке жителей Москвы, этническая принадлежность индивидуумов не учитывалась. Частоты встречаемости составили: rs6265 (A/G) аллель A – 0,265; rs2049046 (A/T) аллель A – 0,407; rs11030107 (A/G) аллель A – 0,872. Показано совместное наследование замен rs6265 и rs2049046. Найдены отличия частот аллелей в исследуемой выборке от частот аллелей в контрольных популяциях сопоставимого размера (литературные данные).

Таким образом, нами впервые определены частоты трех SNP в гене BDNF в случайной выборке жителей Москвы и Московской области. Полученные нами данные могут быть в дальнейшем использованы в ассоциативных исследованиях.

BDNF GENE POLYMORPHISM AMONG OF MOSCOW CITIZENS

Kondratieva N.S., Kokaeva Z.G., Kochetkova T.O., Afonchikova E.V., Klimov E.A.
Moscow State University, Faculty of Biology,
Department of Genetics, Russian Federation,
Moscow, GSP-1, Lenin Hills, d. 1, st. 12

Recent studies have shown an association of brain-derived neurotrofic factor (BDNF) with the pathogenesis of various central nervous system diseases, as it is related with proliferation, differentiation and survival of neurons. BDNF gene is localized in the r14.1 of 11 chromosome and it includes nine functional promoters and 11 exons. Encoding a functional part of the protein sequence is located

in the last exon. Gene is expressed in nociceptive sensory neurons, and modulates activation of glutamatergic and NMDA-receptors.

BDNF gene mutations from the different populations have been associated with such diseases, as: obsessive-compulsive disorder, Alzheimer's disease, anorexia, bulimia, depression, schizophrenia (and also the age of its onset), anxious behavior, autism. At this stage the possibility of the participation of BDNF in the pathogenesis of migraine is discussing. The aim of this work was to analyze the the frequency of three single nucleotide substitutions, located in the *BDNF* gene, using PCR-RFLP method on a random sample of Moscow citizens and ethnicity of individuals was not considered. The frequency was: rs6265 (A/G) A allele – 0,265; rs2049046 (A/T) A allele -0,407; rs 11030107(A/G) A allele – 0,872. It is shown an estate in coparcenary rs6265 and rs2049046 substitutions. The results detected differences in the allelic frequencies in the studied sample from the allelic frequencies in control populations of comparable size sample (obtained from the literature)

Therefore, we first defined the frequency of the three SNP in the BDNF gene in a random sample of Moscow and Moscow region citizens. The obtained data can then be used in association studies.

КОМПЛЕКСНЫЙ ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ «БИФИЛАКТ-БИЛС®» НА ОСНОВЕ ЛАКТО- И БИФИДОБАКТЕРИЙ

Несчисляев В.А., Мокин П.А., Столбова М.Г., Белова И.В., Арчакова Е.Г.
ФГУП «НПО «Микроген» МЗРФ «Пермское НПО «Биомед»,
г. Пермь,ул. Братская, 177.

В Пермском филиале «Биомед» разработан поликомпонентный пробиотический препарат «Бифилакт-БИЛС», содержащий живые антагонистически активные лакто- и бифидобактерии. Бактериальная композиция препарата включает 3 вида микроорганизмов, подбор которых базировался на изучении их биологической и технологической совместимости. Технология разработанного симбиотика включает раздельное культивирование 3-х производственных штаммов с дальнейшим сведением бактериальных взвесей и добавлением защитной среды непосредственно перед лиофильным высушиванием суспензии. Особенностью получения данного пробиотика является сохранение в его составе культуральной жидкости лакто- и бифидобактерий, содержащей активные метаболиты, включая смесь биогенных кислот и их солей (молочная, уксусная, пропионовая кислоты). Сочетание комплекса экзометаболитов, в т.ч. бактериоцинов белковой природы, с высоким содержанием живых клеток позволяет получать препарат с расширенными биологическими свойствами, включающими стимуляцию роста резидентной микрофлоры ЖКТ, подавление условно-патогенных микроорганизмов, регенерацию эпителия слизистой оболочки и иммуномодулирующее действие. Препарат обладает более высокой антагонистической активностью по отношению к условно-патогенным тест-штаммам по сравнению с импортными аналогами («Линекс», «Бифиформ»).

Разработана линейка лекарственных форм препарата, адекватных запросам взрослого и детского контингента потенциальных потребителей. В настоящее время «Бифилакт-БИЛС» (лиофилизат во флаконах и твердые желатиновые капсулы), предназначенный для гастроэнтерологической и гинекологической практики, проходит клинические испытания.

Следует отметить, что совокупность потребительских свойств разработанного пробиотика позволяет считать его достаточно конкурентоспособным в реалиях современного фармацевтического рынка.

THE COMPLEX PROBIOTIC PREPARATION «BIFILACT-BILS®» ON THE BASE OF LACTO- AND BIFIDOBACTERIA

Neschislyaev V.A., Mokin P.A., Stolbova M.G., Belova I.V., Archakova E.G.
Perm Branch «Biomed» of «Microgen» State Company, Perm

In Perm branch «Biomed» was developed the polycomponent probiotic preparation «Bifilact-BILS®» containing living antagonistically active lacto- and bifidobacteria. The bacterial composition of the preparation contains three strains of microorganisms, the selection of which was based on the study of their biological and technological compatibility. The technology of the developed symbiotic includes separate cultivation of three industrial strains, integration of bacterial suspensions, addition of a cryoprotective medium and freeze-drying of suspension. The feature of this probiotic is presence of the lacto-and bifidobacteria culture fluid of containing active metabolites, such as the organic acids (lactic, acetic, propionic) and its salts. The combination of exometabolites, including bacteriocins with the large number of living cells allows to produce a preparation with enhanced biological properties, including growth stimulation of the gastrointestinal tract resident microflora, inhibition of opportunistic microorganisms, epithelium of the mucous membrane regeneration and immunomodulatory effect. The preparation has higher antagonistic activity against opportunistic strains in comparision with foreign analogs («Linex®», «Bifiform®»).

A range of medicine forms of the preparation suitable for adult and children needs was developed. Currently «Bifilact-BILS®» (freeze-dried preparation in vials and hard gelatin capsules) designed for gastroenterological and gynecological practice is in clinical trials.

It should be noted that application properties of the designed probiotic can make it competitive in the modern pharmaceutical market.

КОМПЛЕКСНЫЙ ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ «БИФИЛАКТ-БИЛС®» НА ОСНОВЕ ЛАКТО- И БИФИДОБАКТЕРИЙ

Несчисляев В.А., Мокин П.А., Столбова М.Г., Белова И.В., Арчакова Е.Г.
ФГУП «НПО «Микроген» МЗРФ «Пермское НПО «Биомед»,
г. Пермь,ул Братская, 177.

В Пермском филиале «Биомед» разработан поликомпонентный пробиотический препарат «Бифилакт-БИЛС», содержащий живые антагонистически активные лакто- и бифидобактерии. Бактериальная композиция препарата включает 3 вида микроорганизмов, подбор которых базировался на изучении их биологической и технологической совместимости. Технология разработанного симбиотика включает раздельное культивирование 3-х производственных штаммов с дальнейшим сведением бактериальных взвесей и добавлением защитной среды непосредственно перед лиофильным высушиванием суспензии. Особенностью получения данного пробиотика является сохранение в его составе культуральной жидкости лакто- и бифидобактерий, содержащей активные метаболиты, включая смесь биогенных кислот и их солей (молочная, уксусная, пропионовая кислоты). Сочетание комплекса экзометаболитов, в т.ч. бактериоцинов белковой природы, с высоким содержанием живых клеток позволяет получать препарат с расширенными биологическими свойствами, включающими стимуляцию роста резидентной микрофлоры ЖКТ, подавление условно-патогенных микроорганизмов, регенерацию эпителия слизистой оболочки и иммуномодулирующее действие. Препарат обладает более высокой антагонистической активностью по отношению к условно-патогенным тест-штаммам по сравнению с импортными аналогами («Линекс», «Бифиформ»).

Разработана линейка лекарственных форм препарата, адекватных запросам взрослого и детского контингента потенциальных потребителей. В настоящее время «Бифилакт-БИЛС» (лиофилизат во флаконах и твердые желатиновые капсулы), предназначенный для гастроэнтерологической и гинекологической практики, проходит клинические испытания.

Следует отметить, что совокупность потребительских свойств разработанного пробиотика позволяет считать его достаточно конкурентоспособным в реалиях современного фармацевтического рынка.

THE COMPLEX PROBIOTIC PREPARATION «BIFILACT-BILS®» ON THE BASE OF LACTO- AND BIFIDOBACTERIA

Neschislyaev V.A., Mokin P.A., Stolbova M.G., Belova I.V., Archakova E.G.
Perm Branch «Biomed» of «Microgen» State Company, Perm

In Perm branch «Biomed» was developed the polycomponent probiotic preparation «Bifilact-BILS®» containing living antagonistically active lacto- and bifidobacteria. The bacterial composition of the preparation contains three strains of microorganisms, the selection of which was based on the study of their biological and technological compatibility. The technology of the developed symbiotic includes separate cultivation of three industrial strains, integration of bacterial suspensions, addition of a cryoprotective medium and freeze-drying of suspension. The feature of this probiotic is presence of the lacto-and bifidobacteria culture fluid of containing active metabolites, such as the organic acids (lactic, acetic, propionic) and its salts. The combination of exometabolites, including bacteriocins with the large number of living cells allows to produce a preparation with enhanced biological properties, including growth stimulation of the gastrointestinal tract resident microflora, inhibition of opportunistic microorganisms, epithelium of the mucous membrane regeneration and immunomodulatory effect. The preparation has higher antagonistic activity against opportunistic strains in comparision with foreign analogs («Linex®», «Bifiform®»).

A range of medicine forms of the preparation suitable for adult and children needs was developed. Currently «Bifilact-BILS®» (freeze-dried preparation in vials and hard gelatin capsules) designed for gastroenterological and gynecological practice is in clinical trials.

It should be noted that application properties of the designed probiotic can make it competitive in the modern pharmaceutical market.

ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ ПЕПТИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ

Овчинникова Т.В.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. академиков
М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова Росийской академии наук
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10; ovch@ibch.ru

Эндогенные антимикробные пептиды (АМП) – эволюционно древние факторы врожденного иммунитета, играющие ключевую роль в защите растений и животных от инфекции. Эффективные механизмы защиты от патогенов вырабатывались многоклеточными организмами в процессе их эволюции. Наряду со способностью инактивировать широкий спектр патогенных микроорганизмов, в том числе бактерий, грибков, простейших, оболочечных вирусов, АМП обладают различными видами биологической активности в отношении собственных кле-

ток, в том числе иммунокомпетентных, что позволяет отнести их к числу эндогенных иммуномодуляторов. АМП как молекулярные факторы системы врожденного иммунитета являются медиаторами фагоцитарных, воспалительных и стрессорных процессов. Поиск и исследование новых природных АМП позволит лучше понять закономерности функционирования системы врожденного иммунитета. Изучение биологических функций эндогенных АМП показывает, что эти природные антибиотики являются перспективными молекулами для создания лекарственных средств нового поколения.

Комплексные исследования Научно-образовательного центра ИБХ РАН направлены на поиск, выделение, изучение структуры, биологических свойств и молекулярных механизмов действия природных пептидных антибиотиков и разработку биотехнологических способов их получения. Объектами исследований являются природные пептидные антибиотики бактериального, грибкового, растительного и животного происхождения, в том числе из бактерий *Bacillus licheniformis* и *Brevibacillus laterosporus,* грибов *Emericellopsis salmocynnemata* и *Emericellopsis minima,* чечевицы *Lens culinaris,* укропа *Anethum graveolens,* морского червя *Arenicola marina,* медузы *Aurelia aurita*, осетра *Acipencer guldenstadti* и др. Конечной целью исследования является создание линейки прототипов новых эффективных лекарственных средств на основе природных пептидных антибиотиков и биотехнологической платформы для их получения.

Работа поддержана Министерством образования и науки РФ грантами РФФИ № 12-04-01224 и ФЦП "Научные и научно-педагогические кадры инновационной России" на 2009-2013 годы (соглашение № 8043 от 20 июля 2012 г.).

THE POTENTIAL OF NATURAL PEPTIDE ANTIBIOTICS AS NEW DRUGS

Ovchinnikova T.V.
Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Sciences,
Miklukho-Maklaya 16/10, 117997 Moscow, Russia; ovch@ibch.ru

Naturally occurring peptide antibiotics are a promising class of therapeutics to overcome the increasing resistance of pathogens to existing antibiotics. Endogenous antimicrobial peptides (AMP) are the earliest molecular factors in the evolution of innate immunity and are considered to play a key role in invertebrate host defense. Invertebrate animals have no acquired immunity with a system of antibodies diversification. They live in a microbe laden environment and are presumed to use an AMP-based system as principal defense against potential pathogens. AMP possess a broad spectrum of antimicrobial activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria, fungi, protozoa, and enveloped viruses. In recent years potent immunomodulatory properties of AMP have been characterised and suggested to be an important part of their biological function. An in-depth understanding of the physiological roles and mechanisms of AMP action is crucial for the development of new anti-infectives for therapeutic applications.

Our current research focuses on isolation, structure-function studies, investigation of action mode, and biotechnological production of AMP from the bacteria *Bacillus licheniformis* and *Brevibacillus laterosporus,* the fungi *Emericellopsis salmocynnemata* and *Emericellopsis minima*, the lentil *Lens culinaris,* the dill *Anethum graveolens,* the jellyfish *Aurelia aurita*, the lugworm *Arenicola marina*, the sturgeon *Acipencer guldenstadti,* and others. Natural peptide antibiotics are potent to become an entirely new anti-infective therapeutics.

The work is supported by the Russian Foundation for Basic Research (the project 12-04-01224) and the Russian Federal Target Program "Scientific and Science-Educational Personnel of Innovative Russia" (the state contract 8043).

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К РЕПРОГРАММИРОВАНИЮ ПРОГЕНИТОРНЫХ И СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК

Сабурина И.Н., Репин В.С.
ФГБУ НИИ Общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, РФ

Репрограммирование соматических клеток, процесс, представляющий собой переход из дифференцированного состояния в плюрипотентное, делает возможным и перспективным использование этих клеток в биомедицинских исследованиях и регенеративной медицине. Известные методы репрограммирования клеток человека ограничены для терапевтического применения, так как основаны на вирусной доставке репрограмирующих факторов (iPSC), связанной с риском формирования опухоли, а также вирусопосредованной активацией онкогенов или реэкспрессией интегрированных трансгенов. В настоящей работе рассматривается новый подход репрограммирования соматических и прогениторных клеток человека и млекопитающих через 3D культивирование.

В лаборатории разработаны методики выделения и поддержания в 2D культуре линий ММСК из соматических и прогениторных клеткок взрослых и экстраэмбриональных тканей и органов человека и животных – костного мозга, подкожной жировой и мышечной ткани, кожи, букального эпителия, слизистой оболочки носа, эндометрия, пупочного канатика, термальной плаценты и др. Для всех культур были показаны высокая пролиферация клеток в повторных пассажах, способность к формированию колоний, а также сохранение при длительном монослойном культивировании высокого уровня экспрессии кластера поверхностных маркеров CD90+/CD105+/CD29+, в отсутствии экспрессии CD11b-/CD14-/CD34-/CD45- Предложенные системы 3Dкультивирования: «висячей капли» и на агарозных планшетах 3D Petri Dishes позволяют изучать и манипулировать клетками в пределаходного и несколькихсфероидов. В процессе формирования сфероидовпроисходит репрограммирование составляющих его клеток в плюрипотентные, что подтверждено изменением морфологии,высокой экспрессией клеточных маркеров плюрипотентности – nestin, GATA6, PAX6, а также появлением транскрипционных факторов, таких как Nanog, Oct4 и Sox2, специфических для эмбриональных стволовых клеток. од воздействием индукционных факторов полученные плюрипотентные клетки в составе сфероидов можно преддифференцировать в разных направлениях. Добавление в среду культивирования индуктора васкулогенеза – VEGF приводило к появлениюранних и поздних эндотелиальных прогениторных клеток, что подтверждалось появлением в сфероидах клеток, экспрессирующих Flk-1, CD31, vWF и VEGF. Индуцированные эндотелиальные прогениторные клетки из васкуляризованных мезеносфероидов демонстрировали дифференцировку в эндотелиоциты и участвовали в регенерации сосудистой сети при патологических процессах, что было подтверждено в эксперименте на модели острого повреждения печени крыс и модели повреждения кожи животных (трофическая язва крыс, повреждение кожи уха кроликов). Исследование клеточного репрограммирования при формировании сфероидов из различных соматических и прогениторных клеток открывает новые возможности для изучения и понимания механизмов этого процесса, а также совершенно нового способа получения плюрипотентных клеток.

NEW APPROACHES TO REPROGRAMMING OF PROGENITOR AND SOMATIC CELLS

Saburina I.N., RepinV.S.
FSBI Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Moscow, Russia

Reprogramming of somatic cells, a process which is a transition from differentiated state of cells to pluripotent state, makes it possible and promising to use these cells in biomedical research and re-

generative medicine. Known methods of reprogramming human cells for therapeutic use are limited, since they are based on the viral delivery reprogramming factors(iPSC), which are associated with the risk of tumor formation and virus-mediated activation of oncogenes, or re-expression of integrated transgenes. In this paper, a new approach is presented of reprogramming somatic and progenitor cells of man and mammals through 3Dcultivation.

The laboratory methods have been developed to maintain the isolation and culture of the 2D line ITCs from somatic and progenitor cells of adults and extraembryonic tissues and organs of humans and animals – bone marrow, subcutaneous fat and muscle tissue, skin, buccal epithelium of the nasal mucosa, the endometrium, the umbilical cord, thermal placenta, etc. In all crops, high cell proliferation in repeated passages and the ability to form colonies were shown, as well as long-term preservation of monolayer cultivation of high-level expression of a cluster of surface markers (CD90+/CD105+/CD29+), in the absence of expression of CD11b-/CD14-/CD34-/CD45.The proposed 3D culture system: "hanging drop" and on agarose plate 3D Petri Dishes,allows for examination and manipulation of cells in single and multiple spheroids. In the formation of spheroids, reprogramming of constituent cells into pluripotent cells is involved, which is confirmed by changes in morphology, high expression of cell pluripotency markers – nestin, GATA6, PAX6 - and the emergence of transcription factors such as Nanog, Oct4 and Sox2, specific to embryonic stem cells. Under the influence of inductive factors, the derived pluripotent cells in the spheroids can pre-differentiate in different directions. Adding to the culture medium an inductor of vasculogenesis– VEGF – led to the appearance of early and late endothelial progenitor cells, which was confirmed by the appearance in the spheroids of cells expressing CD133, Flk-1, CD31, vWF and VEGF. Induced endothelial progenitor cells from vascularized mezenospheroids showed differentiation into endothelial cells and were involved in the regeneration of the vasculature in pathological processes, which was confirmed in experiments on models of acute liver injury in rats and skin lesions of animals (trophic ulcer in rat, skin damaged rabbit ears). The study of cellular reprogramming in forming spheroids of various somatic and progenitor cells opens up new possibilities for the study and understanding of the mechanisms of this process, as well as an entirely new way of obtaining pluripotent cells.

АНАЛИЗ СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НУКЛЕОТИДОВ – ИНДУКТОРА ГЕМОПОЭЗА

Шабанова М.Е.[1], Баурина М.М.[1], Тихонов Ю.В.[2]

[1]*Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева 125047, г. Москва, Миусская пл., д. 9, РХТУ; e-mail: baurinamm@mail.ru;*

[2]*Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1, строение 5*

В настоящее время препарат энкад разрешен для клинического применения при дегенеративных заболеваниях нервно-мышечной системы и ряде других болезней. В наших недавних исследованиях по изучению характера кроветворения у облученных мышей было выявлено существенное увеличение пролиферативной активности стволовых клеток под влиянием данного комплексного лекарственного препарата. Было установлено, что препарат энкад обладает стимулирующим действием на гемопоэтическую функцию. Пересадка костного мозга от животных доноров, получавших препарат энкад, существенно увеличивала кроветворение в селезенке облученных мышей. Костный мозг, подвергшийся обработке энкадом, имеет явные преимущества по сравнению с интактным костным мозгом [1,2]. В связи с этим представляет значительный интерес определение точного состава препарата энкад, обладающего столь уникальным действием.

На первом этапе анализ компонентов препарата панкреатического гидролизата дрожжевой РНК проводили методом одномерной тонкослойной хроматографии. При этом было показано, что при содержании низкомолекулярных компонентов до 25% в препарате обеспечивается соответствие энкада необходимым показателям качества фармакопейной статьи (ВФС 42-1758-87).

Дальнейшее изучение препарата энкад было проведено с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. Была отработана методика, позволяющая проводить одновременное разделение как заряженных (нуклеотиды), так и незаряженных гидрофобных (основания и нуклеозиды) соединений. Был количественно охарактеризован состав низкомолекулярных компонентов энкад, включающих азотистые основания, нуклеозиды и нуклеозидмонофосфаты (таблица).

Таблица. *Среднее значение содержания пуриновых и пиримидиновых нуклеозидмонофосфатов, нуклеозидов и оснований в лекарственной форме энкад.*

Низкомолекулярные компоненты Энкад	**мг/мл**	
Цитозин	0,006	0,11
Цитидин	0,032	0,57
Цитозинмонофосфат	0,324	5,80
Уридин	2,670	47,80
Аденин	0,004	0,07
Уридинмонофосфат	0,941	16,85
Гуанозинмонофосфат	1,549	27,74
Аденозин	0,035	0,63
Аденозинмонофосфат	0,024	0,43
Всего	5,585	100

Рассматривая вопрос о биологической активности препарата энкад необходимо отметить, что лекарственная форма препарата содержит значительное количество уридина и аденозина. Уридинмонофосфат и другие уридинфосфаты являются сигнальными молекулами, взаимодействующими с пуринэргическими рецепторами, принимающие участие в нормальной работе мышц [3]. Представлены данные о влиянии урацила и уридина на рост экспериментальных опухолей, а также на процессы регенерации и восстановления. Урацин и уридин относятся к стимуляторам роста быстропролиферирующих клеток. Разносторонней биологической активностью обладает и аденозин – одно из основных регулирующих веществ в организме.

Таким образом, комплекс нуклеозидмонофосфатов, нуклеозидов и азотистых оснований содержит соединения, обладающие значительной биологической активностью, которые вносят вклад в полипотентное действие препарата энкад.

1. Шабанова М.Е., Казаньев В.В., Баурина М.М.и др. Способ усиления пролиферативной активности костного мозга. Патогенез, 2006г., т.4, №1, стр. 71.

2. Шабанова М.Е., Казаньев В.В., Баурина М.М.Действие препарата нуклеотидов в качестве радиопротективного средства. Материалы XIX Российского национального конгресса «Человек и лекарство», М., 2012г., стр. 330-331.

3. Громова О.А., Егорова Е.Ю., Торшин И.Ю.Мышечные судороги, повышенная судорожная готовность: роль магния и оротовой кислоты. Фарматека, 2011г., № 8, стр. 27-32.

ANALYSIS OF COMPOSITION OF A NUCLEOTIDE DRUG, THE INDUCTOR OF HEMOPOIESIS

Shabanova M.E.[1], Baurina M.M.[1], Tihonov Ju.V.[2]
[1]*D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia*
Miusskaya sq. 9, Moscow, Russia 125047; e-mail: baurinamm@mail.ru;
[2]*Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov*
Ostrovitianov str. 1, Moscow, Russia, 117997

Nowadays the drug *encad* is allowed for clinical usage at degenerate diseases of neuromuscular system and some other diseases. In our recent researches on studying of character of hemapoiesis at the irradiated mice the essential increase in proliferative activity of stem cells under the influence of this complex medicine was revealed. It was established that *encad* possesses stimulating action on haemopoetic function. The marrow transplantation from the animal donors receiving the drug *encad* increased significantly hemapoiesis in spleen of the irradiated mice. The marrow which has been undergone by processing with *encad* has obvious advantages in comparison with intact marrow [1,2]. Definition of exact composition of the medicine *encad* possessing such unique action in this regard is of considerable interest.

At the first stage the analysis of components of the preparation of pancreatic hydrolyzate of yeast RNA was carried out by one-dimensional thin layer chromatography method. Thus it was shown that *encad* is provided to necessary indicators of quality of pharmacopoeia (42-1758-87) at compliance of the maintenance of low-molecular components up to 25%.

Further studying of the drug *encad* was carried out with highly effective liquid chromatography. The technique allowing to carry out simultaneous division both loaded (nucleotides), and not loaded hydrophobic (the bases and nucleosides) subjects was fulfilled. The structure of low-molecular components of *encad* including the nitrogenous bases, nucleosides and nucleoside monophosphates was characterized quantitatively.

Table. *Average value of the contents of purine and pyrimidine nucleoside monophosphates, nucleosides and the bases in a medicinal form of encad.*

Low-molecular compounds of *encad*	mg/ml	
cytosine	0,006	0,11
cytidine	0,032	0,57
cytosine monophosphate	0,324	5,80
uridine	2,670	47,80
adenine	0,004	0,07
uridine monophosphate	0,941	16,85
guanosine monophosphate	1,549	27,74
adenosine	0,035	0,63
adenosine monophosphate	0,024	0,43
Total	5,585	100

Considering biological activity of the preparation *encad* it should be noted that the medicinal form of the preparation contains a significant amount of uridine and adenosine. Uridine monophosphate and others uridine phosphates are the signal molecules interacting with purine ergic receptors, taking part in normal work of muscles [3]. The data on influence of uracil and uridine on growth of experimental tumors, and also on regeneration and restoration processes are submitted. Uracil and uridine relate to

growth factors of rapidly proliferating cells, and adenosine, one of the main regulating substances in an organism, possesses versatile biological activity.

Thus, the complex of nucleoside monophosphates, nucleosides and the nitrogenous bases contains compounds possessing considerable biological activity which make the contribution to pluripotent action of the drug *encad*.

1. Shabanova M.E., Kazanyev V.V., Baurina M.M.The method of strengthening of proliferative activity of marrow. Pathogenesis, 2006, v.4, №1, p. 71.

2. Shabanova M.E., Kazanyev V.V., Baurina M.M.Action of the preparation of nucleotides as radio protective agent. Materials of the XIX Russian national congress "Person and medicine", M., 2012, pp. 330-331.

3. Gromova O.A., Egorova Ye.Yu., Torschin I.Yu. Muscle cramp, high convulsive readiness: role of magnesium and orotic acid. Pharmateca, 2011, № 8, pp. 27-32.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОММЕРЧЕСКИХ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ТРАНСФЕКЦИИ РАЗЛИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ

Косовский Г.Ю., Горбунова Е.А., Колмычкова К.И., Спиридонов А.В., Футочкина В.А.
Государственное научное учреждение Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий Российской академии сельскохозяйственных наук г. Москва, e-mail: info@ceerb.ru 127422, г. Москва, ул. Костякова, д. 12 стр.4

Было проведено сравнительное исследование четырех коммерческих реагентов «Lipofectamine 2000» («Invitrogen»), «TurboFect» («Fermentas»), «Lipofectin» («Invitrogen»), «Lipofectamine LTX and Plus Reagent» («Invitrogen»). Трансфекция осуществлялсь на мезенхимных стволовых клеток полученных из костного мозга крыс (МСК КМ), постнатальных фибробластов человека (ПФЧ) и фетальных фибробластов крупного рогатого скота (ФФ КРС) с использованием pTagGFP2-C vector (Evrogen), pEGFP N 1+ vector (Clontech)

Клетки, выращенные до конфлюэнтного слоя примерно 70-80%, подвергли трансфекции препаратами, согласно протоколам рекомендованным фирмой – производителем трансфецирующего реагента. Через 24-48 часов, произведена флуоресцентная микроскопия и фотодокументация культур. Эффективность трансфекции оценивали по отношению числа флуоресцирующих клеток к общему числу клеток в снятом поле.

Выявлено, что наибольшей трансфецирующей активностью обладает плазмида *pEGFP N 1+ vector* (Clontech): наблюдалась более интенсивная флуоресценция, а количество трансфецированных клеток больше на 10 – 50%, по сравнению с трансфекцией плазмидой *pTagGFP2-C vector*. Установлено, что наибольшей трансфецирующей активностью обладает «Lipofectamine LTX and Plus Reagent» («Invitrogen»).

COMPARISON OF EFFECTIVENESS OF COMMERCIAL TRANSFECTION REAGENTS TESTED ON DIFFERENT CELL LINES

Kosovsky G.Yu., Gorbunova E.A., Kolmychkova K.I., Spiridonow A.V., Futochkina V.A.
Centre of experimental embryology and reproductive biotechnology Russian Academy of Agricultural Sciences 127422, Moscow, ul. Kostyakova, d. 12, str. 4, Russia e-mail: info@ceerb.ru

A comparative study of four commercial transfection reagents «Lipofectamine 2000» («Invitrogen»), «TurboFect» («Fermentas»), «Lipofectin» («Invitrogen»), «Lipofectamine LTX & Plus Reagent»

(«Invitrogen») was conducted. Following cell lines were transfected: rat mesenchymal stem cells derived from bone marrow (rat BM-MSC), postnatal human fibroblasts (PHF) and bovine fetal fibroblasts (BFF), using pTagGFP2-C vector ("Evrogen") and pEGFP N 1+ vector ("Clontech").

Cells were grown to 70-80% confluency and then were subjected to transfection agents, according to the protocols recommended by the manufacturers. After 24-48 hours, cultures were viewed under fluorescent microscope and photographed. Transfection efficiency was evaluated based on the ratio of cells showing fluorescence to the total number of cells in the field of view.

It was found that *pEGFP N 1+* plasmid had the highest transfection activity: the fluorescence of the cells transfected with this plasmid was more intensive; the number of transfected cells was 10–50% higher for this plasmid than for *pTagGFP2-C.* It was also shown that reagent «Lipofectamine LTX & Plus Reagent» had the highest transfection activity of the four.

ГЛУТАТИОН (GSH) – РЕГУЛЯТОР ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНОК БАКТЕРИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ?

Стрельцова Д.А.[1], **Васильева С.В.**[1], **Романова Ю.М.**[2], **Алексеева Н.В.**[2]
[1]*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН*
119334, Москва, ул. Косыгина, 4
[2]*НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава РФ*
123098, Москва, ул. Гамалеи, 18

Генетически контролируемая устойчивость патогенных бактерий к антибиотикам не дает позитивного терапевтического эффекта. Развиваются резистентные формы, приводящие к хроническим инфекциям, в т.ч. с формированием специальных структурных образований – биопленок, прямо защищающих бактерии от антибиотиков. Эта проблема стала глобальной и срочно требует развития новых идей и новых технологий. Как правило, действие антибиотиков сопряжено с индукцией в клетках окислительного стресса. В связи с этим особый научный и практический интерес представляют природные антиоксиданты -потенциальные ингибиторы резистентных биопленок.

В работе впервые изучено такое соединение – глутатион (GSH) на условно-патогенной Escherichia coli, патогенной Pseudomonas aeruginosa(возбудитель кистозного фиброза легких), и уропатогенной Proteus mirabilis. Для контроля использован антибиотик ципрофлоксацин (CF).

В клетках *E.coli*, обработанных физиологической концентрацией GSH (5 мМ), наблюдалось 4-кратное снижения показателя массы зрелых биопленок и 2-кратное снижение «продуктивности (П) формирования биопленок »(П=OD_{570}:/OD_{600}, показатель введен нами) [Рис.]. При обработке клеток антибиотиком CF регистрируется 1,5-кратное увеличение показателя П , т.е. CF «побуждает клетки» *E.coli*. уходить в биопленки, а GSH – подавляет эту динамику. В клетках Pr. mirabilis ингибирование формирования биопленок в присутствии GSH (выше10мМ) было менее значительным (максимально – 2-кратно, относительно контроля). Такие же кон-ции GSH были токсичными для Ps. aeruginosa, и для планктонно растущих клеток, и для сформировавшихся биопленок.

Итак, в нашей работе впервые получены доказательства перспектив использования низкотоксичного природного соединения глутатиона как эффективного видоспецифичного ингибитора формирования биопленок рядом бактериальных видов. Эти результаты рекомендованы для использования в практике для борьбы с биопленочными инфекциями при применении имплантируемого медицинского оборудования и медицинских катетеров.

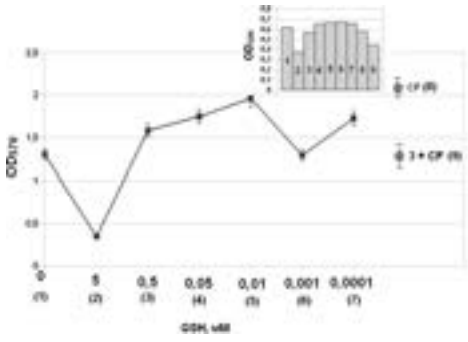


Рис. 1.Дозовая зависимость массы биопленок OD_{570} E. coli MC4100 wt после 24 час инкубации с GSH (1-7), антибиотиком CF (8) и CF+ GSH (9). OD_{600} - оптическая плотность планктонно-растущих клеток.
Fig. 1. Dose dependence of mature biofilms (OD_{570}) in the E.coli cells after 24-h incubation period with GSH (1-7), CF (8) or CF + GSH (9). OD_{600} – optical density of planktonic cultures.

THE QUESTION WORTH ASKING: COULD GLUTATHIONE (GSH) BE A REGULATOR OF BACTERIAL BIOFILM FORMATION?

Streltsova D.A.[1], **Vasilieva S.V.**[1], **Romanova Y.M.**[2], **Alekseeva N.V.**[2]
[1]*Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences*
119334, Moscow, Kosygin st., 4
[2]*Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology*
of Public Health Ministry of Russian Federation
123098, Moscow, Gamaleya st., 18

Being controled by genetic mechanisms the multidrug antibiotic resistance (MAR) of bacterial pathogens leads to therapeutic failure. Pathogenic *species* which have become *resistant* cause chronic infections via the ability to form bacterial biofilms. The biofilms serve as bacterial first line defense against antibiotics. MAR has become a pervasive and *global problem* and its solution requires a development of new scientific and practical approaches. Antibiotic activity is known to be related to the oxidative stress induction. The question worth asking arises: do natural antioxidants possess inhibitory activity towards bacterial boifilms?

In this study we have firstly examine the antioxidant agent glutathione (GSH) in the strains of *conditionally pathogenic Escherichia coli*, pathogenic Pseudomonas aeruginosa and uropathogenic Proteus mirabilis. Antibiotic ciprofloxacin (CF) was used as a positive control.

The inhibitory activity of non-toxic GSH (5 mM) was detected in *E.coli* cells: the biofilm formation decreased 4-fold and the "biofilm productivity of the cells" value (OD570/OD600 ratio) was reduced to one half (Fig.). Treatment of the cells with CF raised 1,5-fold the "productivity" value. GSH solutions (>10 mM) inhibited biofilm formation in Pr. mirabilis cells as well, though the rate of inhibition was slightly less effective (2-fold decrease) compared to *E.coli*. The same doses of GSH were toxic to Ps. aeruginosa, both planktonic cells and biofilms.

We have experimentally proved for the first time that natural compound – antioxidant glutathione could be used as effective biofilm inhibitor in pathogenic bacteria. These results are recommended for practical use in medicine to fight against biofilm infections related to surgical implants.

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРИ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЯХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПИЩЕВЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ

Нгуен Тхи Минь Кхань, Машенцева Н.Г., Колотвина С.В., Ахромова Е.С.
ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств», 125080, г. Москва, Волоколамское шоссе, 11

Биотестирование на клеточных культурах позволяет определить морфофизиологические и хемотаксические изменения тест-объектов, сигнализирующие либо об опасности, либо о благоприятном эффекте, независимо от того, какие вещества и в каком сочетании вызывают изменения жизненно важных функций у тест-объектов. В настоящее время, благодаря простоте, оперативности и доступности, биотестирование получило широкое признание во всем мире.

Биотестирование на клеточных культурах – клетках тканей и органов человека и животных, позволяет провести доклинические испытания потенциальных пищевых ингредиентов, обуславливающих функциональный статус пищевых продуктов. Как известно, продукты питания лишь в том случае могут быть отнесены к функциональным, если имеется возможность продемонстрировать их позитивный эффект на ту или иную ключевую функцию человека (помимо традиционных питательных эффектов) и получить веские объективные доказательства, подтверждающие эти взаимоотношения.

Нами предложен экспресс-метод, в котором в качестве тест-объектов предложены клеточные линии CaCo-2, эпителеподобные клетки аденокарценомы ободочной кишки человека; ДКЛЧ 900/14, ФЛЭЧ-104, фибробласты легкого эмбриона человека; Vero, линия клеток почки африканской зеленой мартышки; HEp-2, эпидермоидная карцинома гортани человека; A 549, карцинома легкого человека; RD, рабдомиосаркома человека; T 98G, глиобластома человека (ООО «БиолоТ», ФГБУ науки Институт цитологии РАН, г. Санкт-Петербург).

В качестве тест-функции, используемой для характеристики отклика тест-объекта на действие среды, выбран морфофизиологический показатель: подсчет количества живых и мертвых клеток до и после обработки сформировавшегося монослоя исследуемыми образцами или их спиртовыми экстрактами.

Работа выполнена при поддержке Гранта президента РФ № МД 3302.2012.4

CELL TECHNOLOGIES IN PRE-CLINICAL TESTS OF FUNCTIONAL FOOD INGREDIENTS

Nguyen Thi Minh Khanh, Mashentseva N.G., Kolotvina S.V., Ahromova E.S.
FGBOU VPO "Moscow State University of Food Production" 1250890, Moscow, Volokolamskoe sh., 11

Biotesting on cell cultures allows us to define morpho-physiological and chemotactic changes of test-objects, signaling or about danger, or about positive effect, no matter which substances and in which combination will cause changes of important vital functions of the test-objects. At the present time, because of its simplicity, efficiency and accessibility, biotesting is widely recognized all over the world.

Biotesting on cell cultures, which are cells of human and animal tissues and organs, allows us to carry out pre-clinical tests for potential food ingredients that determine the functional status of food products. As is known, food products can only be referred to functional if there is an opportunity to demonstrate their positive effect on one or another key function of human (in addition to the traditional nutritional effects) and get good objective evidences, confirming these relationships.

We propose an express method, in which cell lines Caco-2 - epithelial cells of adenocarcinoma of the human colon; DKLCH 900/14, FLECH-104 - lung fibroblasts of human embryo; Vero – cell line

from African green monkey kidney; HEp-2 - human laryngeal epidermoid carcinoma cells; A 549 - human lung carcinoma cells; RD – human rhabdomyosarcoma cells; T 98G – human glioblastoma cells are used as test-objects (those cell lines are supplied by "BioloT", LLC – Institute of Cytology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg).

In test-functions used to characterize the response of test-objects on action of medium, morpho-physiological rate has been chosen: by counting the number of live and dead cells of the formed monolayer before and after treatment by investigated samples or alcoholic extracts.

Our research is under the Grant of President of the Russian Federation № MD 3302.2012.4

КОНТРОЛЬ ВИРУСОВ ГЕРПЕСА ЧЕЛОВЕКА В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ

Шахпазян Н.К.[1], **Гомзяков А.Е.**[1], **Кобзева И.В.**[1], **Карпова Е.Э.**[1],**Скоробогатова Е.В.**[2], **Астрелина Т.А.**[1], **Яковлева М.В.**[1]

[1]*Государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Банк стволовых клеток Департамента Здравоохранения города Москвы», адрес: 115541г. Москва, ул. Бакинская,31*

[2]*ФГБУ Российская детская клиническая больница Минздравсоцразвития, адрес: 117513г. Москва, ул. Ленинский проспект,117*

Цель исследования: оценить персистирование и размножение вирусов герпеса человека в мезенхимальных стволовых клетках (МСК) костного мозга (Км) и плаценты (Пл), а также распространенность их среди доноров МСК.

Материалы и методы. Проведена экспансия МСК от 7 доноров костного мозга и 40 доноров плаценты по стандартной методике для клинического применения. Количественное выявление ДНК вирусов HHV1, HHV2, EBV, CMV, HHV-6 проводилось методом ПЦР до и при экспансии МСК на 2-6 пассаже.

Результаты. У 1 донора Км (с диагнозом: лимфогистиоцитоз) было выделено 702 млн. мононуклеаров и обнаружена ДНК с вирусной нагрузкой EBV – 50 копий/10^5клеток, из которых в процессе экспансии на 2 пассаже было получено 381 млн МСК Км с вирусной нагрузкой – 35263 копии/10^5 клеток, количество копий вируса увеличилось в культуре в 383 раза. У 1 донора Км (с диагнозом: билиарный цирроз) до экспансии было обнаружено ДНК HHV-6, образец был отбракован в процессе культивирования, что говорит о персистировании HHV-6, провести ПЦР-анализ данного образца не удалось. У 1 донора Пл была выявлена ДНК EBV (вирусная нагрузка -26 копий/10^5 клеток) до культивирования, однако при экспансии МСК Пл вирус EBV не был выявлен. ДНК CMV, HHV1 и HHV2 не были выявлены ни в одном из исследуемых образцах Км и Пл до и во время культивирования МСК.

Заключение. тщательный алгоритм подбора доноров снижает риск инфицирования МСК; риск инфицирования МСК увеличивается, если донором являются пациенты, отягощенные тяжелыми хроническими заболеваниями; EBV и HHV-6 обладают тропизмом к МСК и способны размножаться в процессе культивирования; проведение ПЦР-исследования на вирусы герпеса человека до и во время культивирования МСК для клинического применения позволяет своевременно выявить инфицирование клеточного материала; оценка качества клеточного материала для клинического применения должна включать в себя обязательное ПЦР исследование на вирусы герпеса человека.

CONTROL OF HERPESVIRUS IN HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS FOR CLINICAL USE

Shakhpazyan N.K.[1],**Gomzyakov A.E.**[1], **Kobzeva I.B.**[1], **Karpova E.E.**[1], **Skorobogatova E.V.**[2], **Astrelina T.A.**[1], **Yakovleva M.V.**[1]
[1]*Moscow Department of Public Health Moscow Stem Cell Bank,*
address: Bakinskaya street, 31 Moscow, Russia, 115541;
[2]*Russian Children's Clinical Hospital·Health Ministry of Russia ,*
address: Leninskiy prospect, 117, Moscow, Russia, 115541

Aim. To evaluate the persistence and proliferation of human herpesvirus in mesenchymal stem cells (MSCs) from bone marrow (BM) and placenta (PL), and their prevalence among donor MSCs.

Materials and methods. Expansion of MSCs was from 7 donor of BM and 40 donors of PL by the standard method for further clinical use. Quantitative detection of DNA viruses HHV1, HHV2, EBV, CMV, HHV-6 before and during the expansion of MSCs for passages 2-6 performed by PCR.

Results. In one sample of BM (with diagnoses lymphohistiocytosis) was allocated 702 million cells and found DNA viral load of EBV – 50 copies / 10^5 cells, of which the expansion in 2 passage received 381 million MSCs from BM with viral load – 35,263 copies / 10^5 cells, the number of copies of the virus increased culture in 383 times. In one sample of BM (with diagnoses biliary cirrhosis) to the expansion detected HHV-6 DNA, the sample was discarded during cultivation, suggesting persistence of HHV-6, to PCR analysis of MSCs from BM of the sample failed. In one donor of PL revealed DNA EBV (viral load -26 copies /10^5cells) to expansion,but the expansion of MSCs from PL EBV virus has not been found.DNA CMV,HHV1HHV2and were not detected in any of the donors of BM and PLbefore and during expansion of MSCs.

Conclusion·Careful selection of donors cells reduces the risk of infection·the risk of infection of MSCs is increased if donors are patients·all with severe chronic diseases; EBV and HHV-6have a tropism for MSCs and are able to multiply in the expansion·conducting PCR studies in human herpesvirus before and during the culturing of MSCs for clinical use can quickly identify infected MSCs·evaluation of the quality of the MSCs for clinical application should include obligatory PCR study on the human herpesvirus·

СОВМЕСТНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЛИТИЧЕСКОГО ФЕРМЕНТА БАКТЕРИОФАГА FMV С ОКТЕНИДИНОМ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА ПРОТИВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Свиридов Б.В.[1], **Орлова Н.В.**[2]
[1]*ГосНИИгенетика, 117545, Россия, Москва, 1-й Дорожный проезд, д. 1*
[2]*The City University of New York, 160 Convent Ave New York, NY, 10031, USA*

В последние годы проблема возникновения устойчивых к действию анти-биотиков штаммов патогенных микроорганизмов становится всё более острой. В связи с этим актуальной является разработка альтернативных методов борьбы с резистентными бактериями. Одним из направлений является поиск пептидо-гликанлизирующих ферментов (ПЛФ) бактериофагов (лизоцимов, лизинов), используемых ими при выходе фагового потомства из инфицированной клетки.

В ГосНИИгенетика был создан штамм-продуцент лизоцима бактериофага FMV, лизирующего бактерии видов *P.aeruginosa* и перспективного для лечения и профилактики инфицирования *P.aeruginosa* поверхностных ран. Известно, что ПЛФ не способны лизировать грамотрицательные бактерии. Это связано с тем, что внешняя мембрана грамотрицательных бактерий не пропускает ПЛФ. Для её преодоления можно использовать различные вспомогательные вещества. Нашей целью был поиск такого вспомогательного вещества для ПЛФ бактериофага FMV. Среди

исследованных веществ наиболее яркий пример совместного действия был продемонстрирован в случае образца ПЛФ+октенидин.

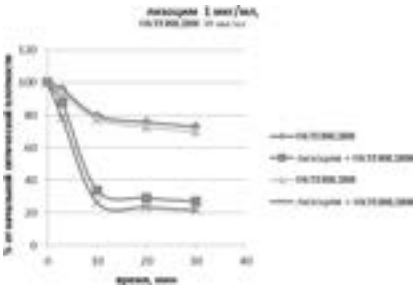


Рис.1

В течении 10 минут обработки происходил лизис бактериальной культуры (Рис.1). Мы предполагаем, что нарушая целостность внешней мембраны октени-дин позволяет ПЛФ разрушить пептидогликан, что и приводит к лизису клеток. В дальнейших исследованиях предусматривается поиск других четвертичных аммо-нийных оснований в качестве вспомогательного средства.

JOINT APPLICATION OF BACTERIOPHAGE FMV LYTIC ENZYME AND OCTENIDINE AS AN ANTIPSEUDOMONAL

Sviridov B.V., Orlova N.V.

In the recent years, the problem of antibiotic-resistant pathogens is arising, especially in the treatment of nosocomial infections. In this regard, development of alternative methods is needed to combat antibiotic-resistant bacteria. One of the possible directions are bacteriophage peptidoglycandegrading enzymes (lysozymes or lysins), which bacteriophages use for bacterial cell wall hydrolysis when phage progeny leaves infected cells.

In GosNIIgenetika had been created a strain producing bacteriophage FMV lysozyme, lysing *Pseudomonas aeruginosa*, and promising for treatment and prevention of *Pseudomonas aeruginosa* infection. It is known that lysins can lyse Grampositive bacteria but not Gramnegative. This is due to the fact that peptidoglycan of Gramnegative bacteria is surrounded by outer membrane, which lysins cannot penetrate. To get through outer membrane one can use different substances.

Our aim was to search for a substance, allowing bacteriophage FMV lysozyme to demonstrate activity against *P.aeruginosa*.

Among the studied substances the most striking example of joint action has been demonstrated in the sample lysozyme + octenidine.

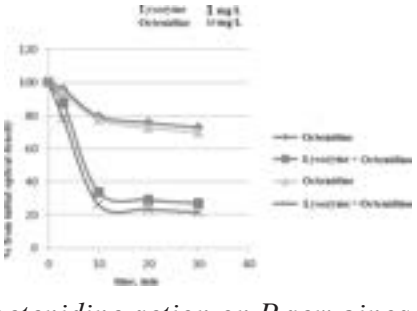


Fig. 1 Activity of joint lysine+octenidine action on P.aeruginosa PAO1 cell suspension.

Within 10 minutes bacterial lysis occures (Fig. 1). We assume that octenidine compromising outer membrane integrity allows the lysozyme to degrade peptidoglycan, which leads to final cell lysis. In this regard, further studies involve search for other quaternary ammonium bases suitable for use as accessory substance for the phage lysin.

МЕТОД ОЧИСТКИ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОГО ИНТЕРФЕРОНА БЕТА-1В ОТ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ

Журавко А.С.[1], Кононова Н.В.[1], Бобрускин А.И.[1], Швец В.И.[2]

[1]*Российская фармацевтическая компания ЗАО «Мастерклон»*
127473, г. Москва, 119019, Ленивка, д. 3, стр. 11.
[2]*Московский государственный университет тонких химических технологий*
имени М.В. Ломоносова; 19571, г. Москва, проспект Вернадского 86.

Использование методов генетической инженерии позволило экспрессировать гены интерферонов в различных клетках, что в свою очередь позволило создать медицинские препараты и применять их для лечения различных заболеваний. В частности, создание препарата на основе рекомбинантного интерферона бета-1b (IFNβ-1b) позволило лечить такое заболевание, как рассеянный склероз.

Синтез IFNβ-1b осуществляли в клетках *E. Coli* штамма BL21(DE3) в виде телец включения (ТВ). Выделение белка из ТВ проводили в несколько стадий, которые заключались в хроматографической очистки целевого белка от балластных белков и низкомолекулярных веществ. Однако получение активной фармацевтической субстанции (АФС) IFNβ-1b сопряжено с трудностями ее очистки от эндотоксинов. Проявляя ярко выраженные гидрофобные и основные свойства (pI 9.1) данный белок в результате ионных и гидрофобных взаимодействий сорбирует на себе молекулы липополисахаридов, которые обладают иммуногенными свойствами, которые могут приводить к тяжелым последствиям при введениях в организм. Поэтому необходим такой способ очистки IFNβ-1b, который свел бы к минимуму содержание эндотоксинов в готовом лекарственном препарате. Целью настоящей работы являлось получение АФС IFNβ-1b, которая согласно данным Всемирной организация здравоохранения, ЕС и FDA, содержала бы эндотоксинов меньше 3 ЕЭ/дозу.

Для достижения заданной цели, исследовали процесс разрушения комплекса эндотоксин-белок в двухфазных системах: тритон Х-114:вода, фенол:вода. Установлено, что эффективное удаление эндотоксинов происходило при двукратном повторении процесса, как в первом, так и во втором случае. Минимальное содержание эндотоксинов в препарате достигало значения менее 0,5 ЕЭ/дозу. Кроме того, биологическая активность и целостность белковой молекулы IFNβ-1b сохранялась после фазового разделения. Однако очистка IFNβ-1b тритоном Х-114 имела ряд недостатков: удаление детергента и разработка метода качественного анализа готового препарата на его наличие. Кроме того, масштабирование процесса приводило к неполному разделению фаз. Поэтому использование водно-фенольной системы, помогает избежать все вышеперечисленные недостатки. Применение такой системы позволяло получать четкое разделение фаз при проведении масштабирования процесса, в результате которого водная фаза содержала ЛПС, а белок полностью переходил в фенольную фазу. Полное удаление фенола проводили методом ОФ ВЭЖХ. Оптимизация условий позволила разработать промышленный метод очистки IFNβ-1b от эндотоксинов наиболее экономически выгодным способом.

METHOD OF PURIFICATION RECOMBINANT INTERFERON BETA-1B FROM BACTERIAL ENDOTOXINS

Zhuravko A.S.[1], Kononova N.V.[1], Bobruskin A.I.[1], Shvets V.I.[2]
[1]*Russian pharmaceutical company «Masterclone»*
127473, Moscow, 119019, st. Lenivka 3/11.
[2]*M.V. Lomonosov Moscow state University of fine chemical technologies;*
19571 Moscow, Vernadskogo av. 86.

The use of genetic engineering methods allowed to express interferon genes in various cells that in turn let produce medical preparations and apply them to the treatment of various diseases. In particular, preparation production on the basis of recombinant interferon beta 1b (IFNβ-1b) allowed to treat such a disease, as multiple sclerosis.

Synthesis of IFNβ-1b was carried out in the cells of strain *E. Coli* BL21(DE3) in the form of the inclusion bodies (IB). Protein isolation from IB was carried out to some stages which consisted in chromatographic purification of target protein from ballast proteins and low-molecular substances. However, obtaining the active pharmaceutical substance (APS) of IFNβ-1b is interfaced to difficulties of its purification from endotoxins. Displaying pronounced hydrophobic and basic properties (pI 9.1), this protein, as a result of ionic and hydrophobic interactions, sorbtions on itself lipopolysaccharides molecules which possess immunogene properties which can lead to serious consequences at introductions in an organism. Therefore such way of IFNβ-1b purification which would minimize the contents endotoxins in ready medicine form is necessary.

The purpose of this work was to obtain APS IFNβ-1b which, according to data World the organization of health care, ES and FDA, would contain endotoxins less than 3 EU/dose. For the achievement of this purpose, the process of endotoxin-protein complex destruction was investigated in two-phase systems: triton X-114:water, fenol:water. It was established that effective endotoxins removal happened at double repetition of the process, both in the first, and in the second case.

Minimum content of endotoxins in the preparation reached value less than 0,5 EU/dose. Besides, biological activity and integrity of IFNβ-1b protein molecule remained after phase separation. However, IFNβ-1b purification by triton X-114 had numerous of disadvantages: removal of detergent and development of qualitative analysis method of ready preparation on its existence. Besides, the scaling of the process led to incomplete separation of phases. Therefore the use of water phenolic system, helps to avoid all above-mentioned disadvantages. The use of such a system allowed to obtain accurate separation of phases when carrying out scaling of process as a result of which the water phase contained LPS, and the protein completely passed to a phenolic phase. The full removal of phenol was carried out by the HPLC method. Optimizations of conditions allowed to develop an industrial method of IFNβ-1b purification from endotoxins in the most economic way.

ЛАТЕРАЛЬНЫЙ ПРОТОЧНЫЙ ИММУНОАНАЛИЗ ТРОПОНИНА I ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА

Яковлева Е.А.[1], Андреева И.П.[2], Григоренко В.Г.[1], Осипов А.П.[1], Егоров А.М.[1]
[1]*Кафедра химической энзимологии,*
Химический факультет Московского Государственного
Университета имени М.В. Ломоносова;
[2]*ЗАО «Научно-внедренческое общество Иммунотех»*

Одной из актуальных проблем современной кардиологии является своевременная диагностика ОИМ. До недавнего времени ни один из известных методов не гарантировал надежной

диагностики ОИМ, особенно на ранней стадии болезни. Многочисленными исследованиями установлено, что раннее начало терапии при подтвержденном диагнозе ОИМ позволяет уменьшить летальность как в первые часы, так и в более поздние сроки пребывания больного в стационаре.

Развитие ОИМ сопровождается обширным разрушением кардиомиоцитов и, следовательно, большим выбросом в кровь специфичных для миокарда белков. Тропонин I (ТнI) является признанным маркером ОИМ. ТнI существует в трех изоформах, уникальных по структуре для каждого типа поперечно-полосатых мышц (быстрых, медленных и сердечных) [1-3]. Кардиальная изоформа ТнI существенно отличается от других изоформ ТнI, характерных для скелетных мышц [4]. В крови здоровых людей концентрация ТнI очень низкая. При инфаркте миокарда тропонин обнаруживается в крови через 4-6 часов, пик его концентрации приходится на 1-2 сутки и остается повышенным до 6-8 дней. ТнI относится к поздним диагностическим маркерам, позволяющим как подтверждать ранее установленный диагноз, так и выявлять "пропущенные" формы ОИМ [5].

Разработан метод иммунохроматографического анализа для экспресс-определения тропонина I (ТнI). В качестве визуальной метки использованы наночастицы золота. Предел обнаружения метода составил 1 нг/мл, коэффициент вариации не превышал 10%. Время проведения анализа не превышает 15 минут. Получена хорошая корреляция с данными твердофазного иммуноферментного анализа тропонина I в реальных сыворотках пациентов. Использование разработанной экспресс тест-системы в клинико-диагностических лабораториях медицинских учреждений кардиологического профиля, а также отделениях скорой помощи и кардиореанимации, позволит более эффективно и надёжно подтверждать диагноз на ранних стадиях возникновения ОИМ.

1. *Затейщикова А.А., Затейщиков Д.А.*// Кардиология.1997. 37. С. 53.
2. *Haum C.* // Ann. Med. 1994. 26. P. 319.
3. *Anderson P.A., Greig A. et al.* // Circulat. Res.1995. 76. P. 685.
4. *Adamcova M., Pelouch V.*//Physiol.Res. 1999. 48. P.235.
5. *Wu A. et.al.* // Clin.Chem.1998. 44. P.1198.

LATERAL FLOW IMMUNOASSAY OF HUMAN TROPONIN-I

Yakovleva E.A., Andreeva I.P., Grigorenko V.G., Egorov A.M., Osipov A.P.
Enzymology Division, Chemistry Department, M.V. Lomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russia

The relevance of the problem of an early and accurate diagnosis of acute coronary heart disease, including the acute myocardial infarction (AMI), is obvious to every physician. Until recently, none of the known methods guaranteed a reliable diagnosis of AMI, especially at the early stages of the disease. Numerous studies have shown that early treatment with a confirmed diagnosis of acute myocardial infarction makes it possible to reduce mortality both in the first hours and at the later stages of patient's stay in hospital. Therefore, the timely diagnosis of AMI is one of the relevant problems of modern cardiology.

The development of AMI is accompanied by the extensive destruction of cardiomyocytes and, therefore, massive emissions into the blood of proteins specific for the myocardium. Troponin is a recognized marker of AMI. Troponin_I (TnI) exists in three isoforms, the structure of which is unique for each striated muscle type (fast, slow, and cardiac muscles) [1–3]. The cardiac isoform of TnI significantly differs from other TnI isoforms located in skeletal muscles [4]. Thus, TnI can be considered as an absolutely specific cardiac marker. In the blood of healthy subjects, the concentration

of TnI is very low. In myocardial infarction, troponin is detected in the blood within 4–6 h, peaks on day 1 or 2, and remains elevated for up to 6–8 days. In this period, the concentration of TnI increases dramatically, though somewhat differently, in different categories of patients. TnI is classified with the late_stage diagnostic markers, which makes it possible to confirm earlier diagnoses and identify missed forms of AMI [5].

The goal of this study was to develop an immunochromatographic test system for detecting troponin I. Rapid lateral flow immunoassay based on colloidal gold nanoparticles as a visual marker was developed for Tn-I detection in serum. The detection limit of the method was 1 ng/ml, the variation coefficient did not exceed 10%.

1. *Затейщикова А.А., Затейщиков Д.А.*// Кардиология.1997. 37. С. 53.
2. *Haut C.* // Ann. Med. 1994. 26. P. 319.
3. *Anderson P.A., Greig A. et al.* // Circulat. Res.1995. 76. P. 685.
4. *Adamcova M., Pelouch V.*//Physiol.Res. 1999. 48. P.235.
5. *Wu A. et.al.* // Clin.Chem.1998. 44. P.1198.

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОМЕДИЦИНСКАЯ ТЕХНИКА»
SEMINAR "BIOTECHNOLOGY AND MEDICAL EQUIPMENT"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ОСНОВЫ ЯДЕРНО-ФИЗИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ СОЧЕТАННОЙ ПРОТОННОЙ И ФОТОННОЙ РАДИОТЕРАПИИ

Акулиничев С.В., Асеев В.Н., Васильев В.Н., Гаврилов Ю.К., Держиев В.И., Коконцев Д.А., Лазебник Д.Б., Скоркин В.М.

ИЯИ РАН, 117312 Москва проспект 60-летия Октября д.7[a]

Ионизующее воздействие протонов (легких ионов) и фотонов на клетки новообразований является сегодня физической основой большей части высокотехнологичного лечения в онкологии. Протонная и фотонная дистанционная лучевая терапия используется как для самостоятельного лечения, так и для сочетанной терапии первичных опухолей и отдельных метастазов. Преимущества протонной терапии основаны на особенностях глубинного дозового распределения (пик Брэгга) и позволяют использовать ее для лечения опухолей сложной локализации, расположенных вблизи критических органов. Сочетанная радиотерапия с протонами и фотонами позволяет наиболее эффективно использовать дорогие в эксплуатации протонные ускорители при сохранении качества протонной терапии. ИЯИ РАН – единственный центр в России, имеющий как действующий ускоритель протонов с оптимальными для терапии параметрами пучка, так и медицинский ускоритель электронов для фотонной дистанционной радиотерапии. Использование собственных программ Монте-Карло для расчета взаимодействий протонов с электромагнитными полями веществом и оригинальных систем формирования и контроля пучка позволило получить терапевтические пучки протонов, отвечающие медицинским требованиям для лечения глубокозалегающих опухолей размером до 10 см. Примеры дозовых распределений в воде для протонов энергии 160 МэВ показаны на Рисунке 1.

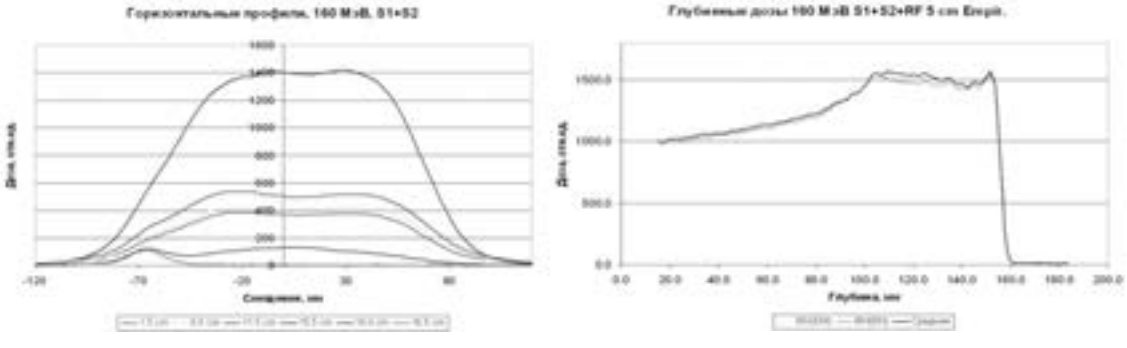


Рис.1 Дозовые распределения в воде для протонов с энергией 160 МэВ (слева горизонтальные профили, справа – распределение по глубине).

Из рисунка следует, что в зоне мишени (верхнее плато на обоих графиках) отклонение интенсивности пучка не превышает 5%, что и требуется для лучевой терапии. С формальной точки зрения, облучение опухолей фотонами от радиоизотопов также можно отнести к фотонной радиотерапии – но не дистанционной, а контактной. В этом направлении в ИЯИ РАН достигнут прогресс по разработке технологии нового вида радиотерапии – высокодозовой брахитерапии с источниками на основе Yb-169: используя уникальную лазерную технологию, были произведены образцы таких источников и изучены их радиационные свойства.

NUCLEAR AND PHYSICAL GROUNDS OF THE COMBINED PROTON AND PHOTON RADIOTHERAPY

S.V.Akulinichev, V.N.Aseev, V.N.Vasiliev, Yu.K.Gavrilov, V.I.Derzhiev, D.A.Kokoncev, D.B.Lazebnik, V.M.Skorkin

INR of RAS, 117312 Moscow 60-th October Ann. Prospect 7 [a]

Ionization of malignant tumor cells by protons and photons is the physical background of most of modern high technology methods in oncology. Proton and photon distant radiotherapy is used for an independent cure, as well as for a combined treatment of solid primary tumors and of isolated metastasis. Peculiarities of proton dose distributions (the Bragg peak) allow to apply the proton therapy for the treatment of deep-seated tumors, localized close to critical organs. Combined or boost radiotherapy with protons and photons allows to effectively use the expensive proton accelerators, provided the treatment quality remains intact. INR of RAS is the only center in Russia having both the proton accelerator with the optimal set of beam parameters for the therapy and a medical electron accelerator for the distant photon radiotherapy. Our own Monte-Carlo code for the calculation of proton interactions with electromagnetic fields and with matter, as well as the original beam formation and control systems allow us to get therapeutic proton beams, suited for the treatment of deep-seated tumors up to 10 cm in size. Some examples of dose distributions for 160 MeV protons are presented on Figure 1.

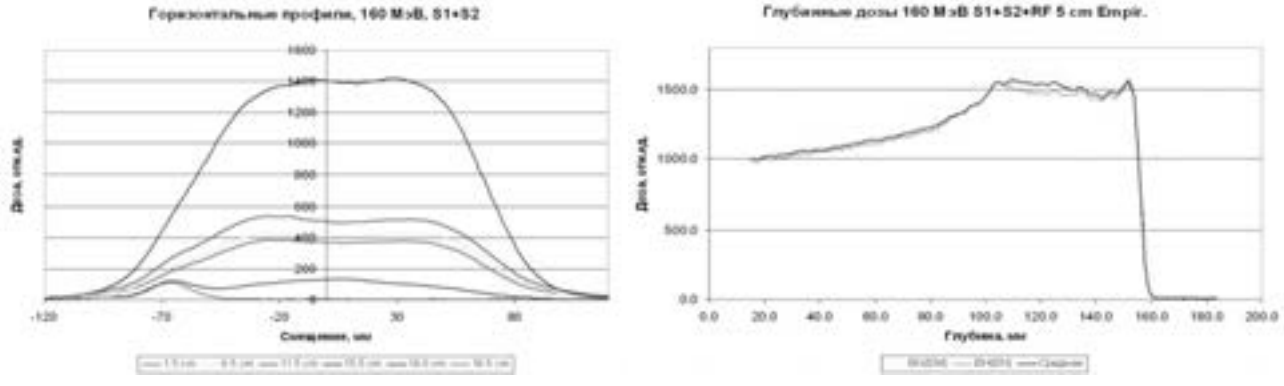


Fig.1 Dose distributions in water for 160 MeV protons (l.h. – horizontal profiles and r.h.- depth distribution).

From this figure it follows that within the target (the horizontal top of all curves) the beam intensity deviation is within 5%, as it is required for radiotherapy.

From the formal point of view, the tumor irradiation by photons generated by radioisotopes is also a kind of photon radiotherapy, but a contact, not distant radiotherapy. In this direction we have obtained some new results for one of new types of contact radiotherapy – for the high dose rate (HDR) brachytherapy with ytterbium-169 sources: using a unique laser technology we have elaborated few samples of such sources and have studies their radiation properties.

ПРИБОРЫ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Гридин В.Н., Труфанов М.И.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Центр информационных технологий в проектировании РАН,
143000, Московская обл, г.Одинцово, ул. Маршала Бирюзова, 7а

В области инструментальных средств диагностики офтальмологических заболеваний на мировом и отечественном рынках сложилась ситуация, характеризуемая созданием и внедрением высокоэффективных дорогостоящих многофункциональных приборов для анализа и выявления заболеваний.

Несмотря на очевидные положительные особенности у подобных приборов есть и существенные недостатки: сложность использования, необходимость привлечения высококвалифицированного медицинского персонала для диагностики, высокая стоимость. Использование таких диагностических средств исключает массовость обследования и, как следствие, своевременное обнаружение потенциально опасных заболеваний.

Своевременное выявление того или иного офтальмологического заболевания на ранней стадии возможно при массовых обследованиях пациентов в первичных медицинских учреждениях посредством использования недорогих узкоспециализированных приборов с высоким уровнем автоматизации и простой с точки зрения конечного пользователя процедурой диагностики.

В Центре информационных технологий в проектировании РАН разрабатываются портативные приборы для скрининг-диагностики катаракты, а также отклонений бинокулярного зрения и глазодвигательного аппарата, характеризуемые высоким уровнем автоматизации, легкостью практического применения, доступной стоимостью. Прибор для диагностики катаракты не имеет прямых зарубежных и отечественных аналогов. Прибор для диагностики бинокулярного зрения отличается от аналогов значительно упрощенной процедурой диагностики и большей точностью измерений.

Применение разрабатываемых приборов позволит в значительной степени решить проблему несвоевременного обнаружения потенциально опасных офтальмологических заболеваний.

DEVICES FOR THE EARLY DIAGNOSIS OF EYE DISEASES

Gridin V.N., Truphanov M.I.
Design information technology center of Russian academy of sciences

In the area of tools diagnosis of ophthalmic diseases in the world and domestic markets we have a situation characterized by the creation and implementation of high-priced multifunction devices for analysis and detection of disease.

Despite the obvious positive features in these devices have significant drawbacks: the complexity of use, the need to attract highly qualified medical staff to diagnose, the high cost. The use of these diagnostic tools excludes mass screening and, as a consequence, the early detection of potentially dangerous diseases.

Ensuring the timely identification of an ophthalmic disease is possible with mass screening of patients in primary health care facilities through the use of low-cost single-purpose devices with a high level of automation and simple in terms of end-user diagnostic procedure.

The Design information technology center of Russian academy of sciences developed portable instruments for screening diagnosis of cataracts, as well as deviations of binocular vision and oculomotor system, characterized by a high level of automation, ease of practical use, affordable cost. Device for the diagnosis of cataract does not have direct foreign and domestic counterparts. Instrument for

the diagnosis of binocular vision differs from analogues significantly simplified the procedure of diagnosis and more accurate measurements. Devices has the following functions: they can be exploited for screening test of wide circle of patients during preventive medical examination and other types of primary medical inspections, that provides timely detection of irregularity of sight, they allows to make quantitative estimation of transparency of eye media, detect the opacity at early stage and provides high-speed and accurate diagnosis and also eliminates human factor during diagnostics, allows to perform the diagnostics by low-skilled medical personnel.

Application of the developed devices will significantly solve the problem of late detection of potentially dangerous eye diseases.

СТАТУС И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ РАДИАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ В ОНКОЛОГИИ

Хмелев А.В.
ГОУ ДПО РМАПО, Москва

Смертность от рака имеет угрожающую тенденцию роста из-за отсутствия совершенной диагностики, способной определить болезнь на начальной ее стадии. Новый метод позитронной эмиссионной томографии (ПЭТ), проводимой совместно с рентгеновской компьютерной томографией (КТ) либо с магнитно-резонансной томографией, а также метод однофотонной эмиссионной компьютерной томографии (ОФЭКТ), проводимой совместно с КТ, призваны частично снять остроту этой проблемы. Эти методы позволяют обнаружить функциональные изменения на клеточном уровне, с анатомической локализацией патологического очага.

В онкологических клиниках мира достаточно широко применяются циклотронные технологии производства ПЭТ-радионуклидов ^{18}F, ^{11}C в протонных пучках с энергией 11-19 МэВ. Следующим шагом их развития является создание научно-производственных центров на базе циклотронов с энергией 18-19 МэВ и 24-30 МэВ. Такие циклотроны способны нарабатывать радионуклиды для диагностики методами ПЭТ (^{89}Zr, ^{124}I, ^{64}Cu, ^{90}Nb и др.) и ОФЭКТ (^{99}mTc, ^{123}I, ^{111}In, ^{67}Ga), а также для планирования радионуклидной (^{86}Y, ^{89}Zr, ^{76}Br, ^{124}I) и лучевой терапии (^{64}Cu, ^{61}Cu).

Современные технологии синтеза радиофармпрепаратов (РФП) включают в себя их стерильное приготовление в радиохимическом модуле, полуавтоматическую его фасовку в шприцы и флаконы, термическую стерилизацию РФП. Развитие таких технологий сегодня происходит в направлении полной автоматизации процессов наработки радионуклидов, их передачи в модуль синтеза, синтеза РФП, контроля качества РФП и их интеграции в единую компьютерно-управляемую технологию

Новая технология регистрации данных, получаемых на ПЭТ-сканере, с использованием времяпролетного метода позволяет достигать более высокого качества ПЭТ-изображения за счет более точной локализации аннигиляционных событий. Преимуществом метода является увеличение отношения сигнала к шуму, улучшение качества изображения, снижение вводимой активности и времени исследования.

В разных станах мира исследуется эффективность ПЭТ-технологии с фтордеоксиглюкозой, меченой ^{18}F, для стадирования и выбора тактики лечения немелкоклеточного рака легкого. В исследованиях, проведенных, в частности, в РОНЦ им. Н.Н.Блохина показано,что дополнительная ПЭТ-диагностика приводит к уточнению стадии этого заболевания в 37% случаев и изменению вида лечения – в 32% случаев.

STATUS AND APPLICATION PROSPECTS OF THE RADIATION TECHNOLOGIES FOR DIAGNOSIS IN ONCOLOGY

A.V. Khmelev
Russian Medical Academy for Post-Graduated Education, Moscow

Mortality from cancer is threatening trend, and the reason of it is, in particular, the lack of perfect diagnosis, possible to identify the disease at the initial stage. New method of positron emission tomography (PET), held together with x-ray computed tomography (CT) or magnetic resonance imaging (MRI), as well as the method of a single-photon emission computed tomography (SPECT), held together with CT, designed to partially mitigate this problem. These methods allow discovering the functional changes at the cellular level with accurate anatomical localization of the pathological focus.

At the present time the cyclotron technologies of the PET-radionuclides production with using of 11-19 MeV proton beams are widely applied in oncological clinics of the world . The next step of the radiation technologies development is the establishment of research-and-distribution centers working on the basis of the cyclotrons with proton beam energy 18-19 MeV and 24-30 MeV. Such cyclotrons are able to produce radionuclides for PET-diagnosis (^{89}Zr, ^{124}I, ^{64}Cu, ^{90}Nb etc.), SPECT-diagnosis (^{99}mTc, ^{123}I, ^{111}In, ^{67}Ga), the planning of radionuclide therapy (^{86}Y, ^{89}Zr, ^{76}Br, ^{124}I) and radiation therapy (^{64}Cu, ^{61}Cu).

Modern technologies of the radiopharmaceuticals (RPh) synthesis include RPh sterile preparation of a medicine in the radiochemical module, semi-automatic dispensing in syringes and vials, the thermal sterilization of the product. The developments of such technologies today are in the direction of full automation of the processes: 1) the radionuclides production, 2) their transportation in radiochemical module, 3) the RPh synthesis, 4) the RPh quality control and the integration of these processes in a single computer-controlled technology.

The new technology of data registration, obtained from a PET-scanner, using the time-of-flight method allows achieving a high quality PET-imaging due to more accurate localization annihilator events. Advantage of this method is the increasing of the signal to noise ratios, improving the quality of the image, reducing entered to the patient RPh activity as well as reducing of the study time.

Researchers of the world different countries investigate the effectiveness of the PET-technology with [^{18}F]-fluorodeoxyglucose for the staging and management of non-small cell lung carcinoma. In studies carried out, in particular, in N.N. Blokhin Cancer Research Centre were shown that the additional PET-diagnosis leads to a revision of the stage of this disease in 37% of cases, and change the type of the treatment – in 32% of cases.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭКСПЛУАТАЦИИ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ В СЛУЖБЕ КРОВИ

Лазаренко М.И.[1], **Костин А.И.**[2], **Морозова Н.В.**[1]
[1]*РМАПО кафедра Медицинская техника 123995, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1*
[2]*ГКБ им. С.П.Боткина 125284 г. Москва, 2-й Боткинский пр-д,5*

Одной из особенностей современной медицины являются ее затратность, связанная с применением высокотехнологичных методов лечения и усиливающегося контроля страховых кампаний за качеством оказываемой медицинской помощи. Успешность многих медицинских вмешательств (особенно у больных гематологического, кардиохирургического, трансплантационного профиля, находящихся в реанимационных отделениях) зависит от правильного использования всего спектра производимых компонентов донорской крови. Безопасность и эф-

фективность трансфузионной помощи, зависят от соответствия компонентов крови критериям качества. Современное производство таких компонентов крови в свою очередь требует использования значительного количества технологий от момента донации до непосредственного применения их в клинике.

Суть технологических процессов сводится к физическим и физико-химическим методам воздействия на донорскую кровь. К физическим методам можно отнести: – центрифугирование и все виды афереза, – холодовая цепь при заготовке, транспортировке и хранении плазмы и клеточных компонентов крови, – использование пластикатной тары, закрытого контура систем для взвешивания, перемешивания, заготовки, транспортировки и хранения крови, – использование, фильтров для лейкоредукции. К физико-химическим методам можно отнести: – использование консервирующих и взвешивающих растворов для заготовки и хранения компонентов крови, – методы инактивации патогенов в дозе компонента крови, основанные на фотохимических реакциях, – сорбционные методики.

Обилие технологий, высокие требования к стандартизации службы крови, ведет к тому, что получение компонентов крови по технологическим требованиям будет соответствовать производству лекарственных средств. Уже сейчас создается система управления качеством при организации производства компонентов крови и мероприятия по централизованному контролю качества с использованием высокотехнологичного лабораторного оборудования. Стандартные операционные процедуры, как и в фармпроизводстве должны быть составлены на каждый сегмент производства компонентов крови. В связи с высокой стоимостью внедрения новой технологии, перед тиражированием ее на российском рынке, необходим обязательный входящий контроль качества, пострегистрационные испытания, а также доказательные фармакоэкономические исследования. Обеспечить данные высокие требования должна медицинская техника для службы крови, имеющая свою классификацию, различные технические параметры и специфические особенности эксплуатации.

TECHNOLOGICAL ASPECTS OF THE OPERATION OF MEDICAL TECHNOLOGY IN BLOOD TRANSFUSION SERVICES

Lazarenko M.I.,[1] Kostin A.I.[2], Morozova N.B.[1]
[1]*RMAE Cathedra Medical Technology, Moscow*
[2]*Hospital S.P.Botkina, Moscow*

One of the features of modern medicine is the expensiveness associated with high-tech treatments and increasing control insurance company for the quality of medical care. The success of many medical interventions depends on the correct using full range of produced blood's components (especially in cases hematological, cardiac surgery, transplantation diseases in emergency room).Safety and efficacy of transfusion care depends on matching blood components for quality criteria. Modern production of blood components requires using significant amount of technologies from the time of donation to the direct application in the clinic.

There are two types of technological processes affecting on donor blood: Physical; Physicochemical; Physical processes are following:Centrifugation and all types of aphaeresis; cold chain storage in the procurement, transportation and storage of plasma and cellular components of blood; Using plastic containers; Using closed loop for weighing systems, preparation, mixing, transportation and storage of blood; Using filters to leukodepletion. Physicochemical processes are following: using of preservatives and weighing solutions for harvesting and storage of blood components; methods of inactivating pathogens in a dose of a blood component's, based on photochemical reactions; using sorption techniques.

The abundance of technology, high standards of blood standardization service leads to the conformity producing blood components to the production of medicines. The Quality Management System during producing blood components and measures for centralized control used high quality laboratory equipment are creating now. Standard operating procedures, like in pharmaceutical production, should be in every part of blood components production. The high cost of new technologies requires mandatory incoming quality control, after registration tests and pharmacoeconomic researches before circulation it in the Russian market. Medical equipment for blood service with own classification and different technical parameters and specific features of operation, should provide such high requirements.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ РАДИОЧАСТОТНЫХ УСТРОЙСТВ ДЛЯ РАЗРУШЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ

Макаров В.Н.
мгту мирэа,119454, Москва,
пр.Вернадского,78

В последние годы в онкологии возникла и интенсивно развивается малоинвазивная техника радиочастотного (РЧ) разрушения раковых опухолей за счёт их нагрева до температур коагуляции ткани и выше (вплоть до 100°C). Избирательность разрушения при такой технике достигается за счёт подведения тепловой энергии непосредственно в область, пораженную патологическим процессом. Сокращение времени пребывания больного в медицинском учреждении и резкое увеличение числа больных, которым может быть оказана эффективная помощь, делают этот метод весьма привлекательным на современном этапе развития медицины. Основными проблемами РЧ абляции являются сложность получения достаточно больших объемов коагуляции и непреодолимые затруднения с нагревом клеточных структур вблизи кровеносных сосудов. Решение первой проблемы связано с переходом от монополярного режима к биполярному и использованию многоэлектродных конструкций электродов. При использовании линейных и круговых конструкций из биполярных электродов электрическое поле концентрируется в областях между электродами и эффективность нагрева существенно возрастает по всему объёму опухоли, включая её периферийную часть. Решение второй проблемы связано с использованием явления электропорации тканей. Воздействие импульсов микросекундной длительности приводит к увеличению проницаемости внешней мембраны клетки за счет образования пор размером в несколько нанометров. Кратковременное открытие пор даёт возможность ввести в клетку ряд химических веществ (блеомицин, цисплатин и др.). При необратимом пробое удаётся достичь некроза ткани без её нагрева. Поэтому представляется целесообразным создание отечественного устройства для разрушения раковых образований с комбинированным воздействием. Приведены результаты расчетов и экспериментов, подтверждающих эти положения.

"FUTURE OF INSTALLATIONS FOR RADIOFREQUENCY ABLATION OF BIOLOGICAL TISSUES "

V.N. Makarov
MGTU MIREA, 119454, Moscow,
PR.VERNADSKOGO, 78

Minimally invasive radiofrequency (RF) technique of destroy tumors by heating them to a temperature of tissue coagulation and higher (up to 100°C) is appeared and rapidly developed in recent

years. Selective destruction by this technique is achieved by summing up heat directly to the area affected pathological process. Reducing time patient's stay in hospital and a sharp increase in the number of patients who can be rendered effective assistance make this method very attractive at the current stage of development of medicine. The main problems of RF ablation are connected with difficulties to obtain sufficiently large volumes of coagulation and ablation of cell structures near the blood vessels. The solution of first problem is connected with transition from monopolar to bipolar mode and the use of multi-electrode structure of electrodes. Electric field is concentrated in regions between the electrodes in linear and circular structures of bipolar electrodes and the heating efficiency are increased substantially in entire volume of tumor including its peripheral part. Solution of second problem is connected with electroporation of tissue. Impact pulses of microsecond duration increases the permeability of the outer membrane of cells through formation of pores with a few nanometers size. Short opening time allows to enter any chemicals in cell. Irreversible breakdown of tissue necrosis can be achieved without heating it. Creating of installation for ablation of cancers with combined effect of ablation are seemed appropriate. The results of calculations and experiments are supporting these positions.

ОБРАБОТКА ПОВЕРХНОСТИ ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ В ЭЛЕКТРОЛИТАХ-СУСПЕНЗИЯХ

Крит Б.Л.[1], **Морозова Н.В.**[2]

[1]*МАТИ – Российский государственный технологический университет имени К.Э.Циолковского, 121552 г. Москва ул. Оршанская, 3;*

[2]*Российская медицинская академия последипломного образования (РМАПО), 123995, г. Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1 стр.1*

Металлические материалы широко используются в медицине для изготовления имплантов, инструментов и деталей оборудования. В последнее время большой интерес проявляется к сплавам магния по причине их нетоксичности, низкой плотности, биологической и механической совместимости с костными и мышечными тканями. Mg – четвёртый по численности катион в человеческом организме, участвует во многих метаболических процессах. Однако проблема биомедицинских сплавов Mg состоит не столько в недостаточно высоком уровне их коррозионной стойкости вообще и в жидкостях человеческого тела – в частности, а в неконтролируемости этого процесса. Решением проблемы может служить разработка Mg изделий с заданным показателем коррозии. Это может быть достигнуто, в том числе, модифицированием поверхности.

В этом смысле всё большую популярность приобретает метод микродугового оксидирования (МДО), благодаря которому возможно осуществлять синтез нанокерамических сверхтвёрдых коррозионностойких композитных слоёв на поверхности различных деталей. МДО в электролитах-суспензиях, содержащих в своем составе порошки различной степени дисперсности и природы, представляет собой отдельное направление в области МДО-технологий, которое активно развивается в последние годы.

В работе представлены данные исследований, направленных на улучшение характеристик магниевого сплава МА2-1 плазменно-электролитической обработкой в электролитах-суспензиях, содержащих нанопорошки Al_2O_3 и ультрадисперсных алмазов. Результаты свидетельствуют о пятикратном увеличении твёрдости и износостойкости, повышении более чем на порядок коррозионной стойкости по сравнению с необработанным металлом.

SURFACE TREATMENT OF THE WORKPIECES FOR MEDICAL APPOINTMENTS IN ELECTROLYTES-SUSPENSIONS

Krit B.L.[1], **Morozova N.V.**[2]
[1]*MATI – K.E. Tsyolkovsky Russian State Technological University*
Address: 3, Orshanskaya st., Moscow, Russia, 121552;
[2]*Russian Medical Academy of Postgraduate Education Studies,*
Address: 2/1, Barrikadnaya str., Moscow, 123995

Metal materials are widely used in medicine for production of implants, tools and equipment details. Recently the great interest is shown to magnesium alloys because of their not toxicity, low density, biological and mechanical compatibility with bone and muscular tissue. Mg – the fourth cation in a human body, participates in various metabolic processes. However the problem of biomedical alloys of Mg consists not only in insufficiently level of their corrosion resistance in general and in liquids of a human body – in particular, but in not controllability of this process. As solution is development of Mg products with the predicted indicator of corrosion. It can be reached after all by surface modifying.

In this meaning the method of microarc discharge oxidizing (MDO) has got a increasing popularity due to it is possible to carry out synthesis of nanoceramic superhard corrosion-resistant composite layers on a surface of various details. MDO in the electrolytes-suspensions which contains powders of various degree of dispersion and the nature, represents the separate branch in the field of MDO-technologies and actively develops in recent years.

In present work the data of the researches to improvement of characteristics of a magnesium' alloy MA2-1 by plasma-electrolytic processing in electrolytes-suspensions contains the nanopowders of Al_2O_3 and ultra disperse diamonds are submitted. Results testify to fivefold increase in hardness and wear resistance and more than order increase in corrosion resistance compare with the raw metal.

КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ПРИМЕНЕНИЮ ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМ РЕПРОДУКЦИИ КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И БИОПРОТЕЗИРОВАНИЯ

Розанов В.В.[1,2], **Быков В.А.**[3], **Матвейчук И.В.**[3,4], **Денисов-Никольский Ю.И.**[4], **Пантелеев В.И.**[2,5], **Шутеев С.А.**[1,2]
[1]*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова*
119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 2, МГУ, физический факультет, ЦГИ,
[2]*Научный и информационно-методический центр «Базис»,*
[3]*Всероссийский институт лекарственных и ароматических растений Россельхозакадемии,*
[4]*Научный и учебно-методический центр биомедицинских технологий ГНУ ВИЛАР,*
[5] *Вятский государственный университет*

Цель работы – разработка и внедрение в практику тканевых банков «технологической цепочки» по изготовлению костных имплантатов с использованием современных инновационных технологий на всех этапах.

Клинические работы, связанные с костной пластикой, чем бы ни была вызвана необходимость в таких операциях – травматические повреждения, постоперационные осложнения, гнойные поражения костей и проч. связаны с необходимостью замещения пораженных участков или утраченных фрагментов. Эффективность процесса репаративного остеогенеза определяется множеством факторов – и, не в последнюю очередь – свойствами и качеством изготовленного имплантата. Для его обеспечения предложен новый инновационный подход, основанный на ис-

пользовании современных прогрессивных технологий механической обработки костных фрагментов на основе применения высокоэнергетической гидродинамической резки специально сформированной струей жидкости, химической обработки заготовки с поэтапным контролем качества – степени деминерализации или деорганификации гистоморфометрическим методом, а также структуры и физико-механических свойств методом акустической микроскопии, фармобработки имплантатов с использованием лекарственных препаратов пролонгированного действия с высокой степенью биодоступности, направленным транспортом биологически активных веществ (БАВ), способствующих повышению эффективности процесса репаративного остеогенеза, и, наконец, – эффективной стерилизации готовых имплантатов.

A COMPREHENSIVE APPROACH TO THE USE OF INNOVATIVE TECHNOLOGIES TO ADDRESS REPRODUCTIVE CELLS, TISSUES AND ORTHOTIC

Rozanov V.V.[1,2], **Bykov V.A.**[3], **Matveichuk I.V.**[3,4], **Denisov-Nikolsky Y.I.**[4], **Panteleev V.I.**[2,5], **Shuteev S.A.**[1,2]

[1]*Lomonosov Moscow State University*
119991, Moscow, Leninskie gory,1, MSU, Faculty of Physics,
[2]*Scientific and information-methodical center "Basis",*
[3]*All-Russian Institute of Medicinal and Aromatic Plants of Russian Academy of agricultural Sciences,*
[4]*Research and Training Center of Biomedical Technologies of All-Russian Institute of Medicinal and Aromatic Plants of Russian Academy of agricultural Sciences,*
[5]*Vyatka State University*

The main purpose of this investigation is to develop and institutionalize tissue banks "production chain" for the production of bone implants using the latest innovative technologies at all stages.

Clinical works relating to bone grafting, no matter what has been called the need for such operations – traumatic injuries, post-operative complications, septic bone and so on, associate with the need to replace the affected parts or lost pieces. Efficiency of reparative osteogenesis is determined by many factors – and, last but not least – the properties and build quality implant.

To ensure it a new innovative approach is offered. It based at first, on the use of modern advanced technology of bone fragments developing by means of the use of high-energy hydrodynamic cutting specially formed liquid jet, secondly, on the chemical treatment with a phased procurement of quality control – the degree of demineralization or deorganification by the histomorphometric method, and the structure and physico-mechanical properties by acoustic microscopy, in third, on the pharmacological treatment of implants using long-acting dosage preparations with high bioavailability, directed transport of biologically active substances (BAS) to help improve the efficiency of the process of reparative osteogenesis, and finally – the effective sterilization of finished implants.

РАЗРАБОТКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕРАТОРОВ ОЗОНА ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ

Пантелеев В.И.[1,3], **Розанов В.В.**[2,3], **Матвейчук И.В.**[4]
[1]*ГОУ ВПО «Вятский государственный университет»,(610000, г. Киров, Московская, 36);*
[2]*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*
[3]*Научный и информационно-методический центр «Базис»,*
[4]*Научный и учебно-методический центр биомедицинских технологий ГНУ ВИЛАР*

Во всем мире прослеживается устойчивая тенденция переориентирования науки и наукоемких технологий, определяющих развитие цивилизации, на решение жизненно важных проблем человека. Наиболее важной проблемой является сохранение природной окружающей среды, от которой зависит качество жизни и здоровье населения. Острые экологические проблемы (не всегда очевидные последствия промышленных выбросов и др.) во многих регионах уже приобрели такие масштабы, что некоторые из последствий, возможно, носят необратимый характер и представляют реальную угрозу нашему здоровью.

Сегодня перспективным и развивающимся направлением является использование в медицинских целях природного агента, сильного окислителя – озона. Уникальный спектр воздействия озона на биологические объекты позволяет эффективно и экономично лечить широко распространенные заболевания человека и животных, в том числе инфекционные, без вредных побочных эффектов.

Применение природного озона для оздоровительных целей является новым решением актуальных проблем, связанных с качеством жизни и здоровьем

Условием, обеспечивающим успешное использование озона для биотехнологических применений, является разработка генераторов озона, отвечающих современным требованиям. В докладе приводятся технические характеристики разработанных генераторов озона для биотехнологических применений, и которые могут быть использованы для проведения научных исследований по применению озона в экологии, биотехнологии и медицине. Разработки демонстрировались на Международных выставках, дважды отмечены серебряной медалью на Московском Международном Салоне инноваций и инвестиций. Медицинские синтезаторы озона имеют сертификат и включены в Государственный Реестр изделий медицинского назначения и медицинской техники.

THE DEVELOPMENT AND USE OF OZONE GENERATORS FOR BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS

Panteleev V.I.[1,3], **Rozanov V.V.**[2,3], **Matveichuk I.V.**[4]
[1]*Vyatka State University, (610000, Kirov, Moscow str., 36);*
[2]*Lomonosov Moscow State University,*
[3]*Research and information-methodical center "Basis",*
[4]*Research and Training Center of Biomedical Technologies of All-Russian Institute of medicinal and aromatic plants of Russian Academy of agricultural Sciences.*

All over the world steady reorientation of science and high technology, determine the development of civilization, the solution of vital problems of man can be traced. The most important issue is the preservation of the natural environment, which determines the quality of life and health. Acute environmental problems (not always obvious effects of industrial emissions, etc.) in many regions

have already acquired such proportions that some of the effects may be irreversible and represent a real threat to our health.

Today promising and developing trend is for medical treatment of natural agent, a strong oxidant – ozone. Unique range of ozone on biological objects can efficiently and cost-effectively treat common diseases of humans and animals, including infections with no harmful side effects.

The use of natural ozone for recreational purposes is a new solution of actual problems related to quality of life and health.

The important conditions for ozone using for biotechnological applications is the development of ozone generators that meet modern requirements. The report is devoted to specifications of ozone generators for biotechnological applications, which can be used for research on the application of ozone in the environment, biotechnology and medicine too. These generators have been shown at international exhibitions, twice awarded the silver medal at the Moscow International Salon of Innovations and Investments. Medical ozone synthesizers are certified and included in the State Register of medical devices and medical equipment.

ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАФИЯ СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ

Зайченко К. В.
Санкт-Петербургский государственный университет аэрокосмического приборостроения, 190000 Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 67, каф. медицинской радиоэлектроники (№24).

Многочисленные зарубежные исследования в области регистрации и анализа низкоамплитудных высокочастотных компонентов для обнаружения новых информационных составляющих электрокардиосигнала (ЭКС) показали возможность выявлять признаки заболеваний сердца на различных этапах их развития. В связи с этим одной из основных тенденцией развития электрокардиографии стало снижение минимальных значений амплитуд, а также увеличение верхней границы частотного диапазона обрабатываемых ЭКС. Дальнейшее развитие электрокардиографии в направлении поиска новых диагностических признаков кардиозаболеваний за счёт увеличения её разрешающей способности потребовало создания нового инструментария и изучения его возможностей. Эту тенденцию отражают современные методы электрокардиографии с повышенной разрешающей способностью: дополнительно усиленная или крупномасштабная, высокого разрешения, высокочастотная и сверхвысокого разрешения (ЭКГ СВР) – методы перечислены в порядке хронологии их внедрения в практику. Метод ЭКГ СВР разработан коллективом научной школы «Радиоэлектронные и информационные средства оценки физиологических параметров живых систем» (руководитель школы – автор данного доклада). Для практической реализации этого метода были разработаны соответствующие аппаратные и программные средства. На их основе проводились исследования по регистрации и обработке ЭКС в различных условиях, в том числе в процессе развития искусственно вызванных кардиопатологий у подопытных животных. Внедрение ЭКГ СВР способствует появлению перспективного компьютеризованного электрокардиографа нового поколения, в котором будут использованы все известные достижения электрокардиографии для обработки ЭКС и диагностики кардиопаталогий, а также развиты и реализованы главные тенденции современного развития электрокардиографии в части расширения амплитудно-частотных диапазонов регистрации, обработки и анализа ЭКС.

ULTRA-HIGH RESOLUTION ELECTROCARDIOGRAPHY

Zaichenko K.V.
Saint-Petersburg State University of Aerospace Instrumentation,

Numerous foreign researches in the field of low-amplitude high-frequency components analysis and registration for new electrocardiosignal (ECS) information components detection have revealed the possibility to detect the heart diseases symptoms at different stages of disease progression. Therefore the handled ECSs amplitude minimal magnitude reduction, as well as frequency range top increase, became one of the principal electrocardiography progress trends. Further electrocardiography development along the lines of cardiodiseases new diagnostic symptoms discovering at the cost of its resolution increasing claimed for new instruments and for its possibilities studying. This tendency is represented with modern approaches of heightened resolution electrocardiography: additionally amplified or large-scale, high-resolution, high-frequency and ultra-high resolution (UHR ECG) – the approaches are listed after its introduction chronology. The UHR ECG method was developed by the «Radioelectronic and information living system physiological parameters valuation means» scientific school team (this school head is the author of this report). Appropriate hardware and software tools were developed for this method practical realization. ECS registration and processing researches in different conditions and also in the test animals artificially provoked cardiopathologies evolution were carried out on basis of these tools. The UHR ECG introduction favors the new generation promising computerized electrocardiograph appearance, applying all known ECS processing and cardiopathology diagnostics achievements, as well as developing and implementing of principal progress trends of electrocardiography modern development in the scope of ECS registration, processing and analysis amplitude-frequency ranges expansion.

СЕКЦИЯ «ИММУННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ»
SECTION "IMMUNE BIOTECHNOLOGY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

БойкоН. В.
Ужгородский национальный университет, медицинский факультет,
Лаборатория молекулярной микробиологии и иммунологии слизистых оболочек
г. Ужгород, ул. Пидгирна, 46, 88000, Украина

Причинно-следственная связь между возникновением заболеваний человека, обусловленных нарушением обмена веществ с его рационом питания, иммунным ответом и состоянием комменсальноймикробиотыкишечника на сегодня является доказанной.

Несмотря на это достоверные биологические маркеры для раннего выявления метаболического синдрома и сердечнососудистых заболеваний отсутствуют.

Для выяснения возможной связи между "типичными диагностическими показателями" и предлагаемыми новыми маркерамиранней индикации этих болезней были проведены клинические испытания. При статистическом анализе данных использовали коэффициенты корреляции Пирсона, как наиболее подходящие в данном случае для оценки случайных колебаний величин с так называемым "нормальным распределением".

У пациентов с диагнозом "метаболический синдром" установлена корреляционная зависимость между снижением титров представителей комменсальноймикробиотыкишечника *Bifidobacteriumspp.*, высокими уровнями триглицеридов (p = 0,51), холестерина (p = 0,852)в сыворотке крови, избыточной массой тела (p = 0,751)и превышающими нормальные значения показателями окружности талии, свидетельствующие об "абдоминальном типе" ожирения (p = 0,656).Количество *Lactobacillusspp.*в кишечнике коррелирует с содержанием гликозилированного гемоглобина в крови (p = 0,894) и антикоррелирует с титрамилактозо-положительных *E.coli* (p = -0,896).Высокие концентрации гликозилированного гемоглобина коррелировали с резким увеличением общего IgA в сыворотке крови (p = 0,894), продукцией ФНО-α (p = 0,643) и снижением секреции IgAs в фильтратесодержимого кишечника (p = 0,860), что доказывает правомочность воспалительной (иммунной) теорииинициации сахарного диабета (метаболического синдрома).

Уровни триглицеридов и холестерина напрямую связаны с увеличением числа *Enterococcus*spp. в кишечнике (соответственно, p = 0,83 и p = 0,65) и снижением уровня IL-12 (p = 0,853 и p = 0,636 соответственно). Повышенные уровни IL-10 наблюдали у пациентов с избыточной массой тела (p = – 0,703), высокими значениями гликозилированного гемоглобина (p = – 0,764) и холестерина (p = – 0,577).

У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями доминирующими представителями кишечногомикробиома оказались потенциально патогенныеэнтеробактерии. Титры *Staphylococcusspp.*, *Candidaspp.*и лактозо отрицательной *E.coli* коррелировали с высоким уровнем мочевой кислоты в сыворотке крови (p = 0,994, p = 0,984 и p = 0,694 соответственно). Количество*Proteusspp.*в содержимом кишечниканапрямую связано с локальной секрецией IgA(p = 0,903), тогда как нарастание титров *Clostridiumspp.*приводило к повышенной секреции TNF-α в сыворотке крови(p = 0,582).

В результате статистической обработки комплекса диагностических параметров, полученных в клиническом эксперименте, предложены ранниемикробиологические и иммунологические маркеры для выявления нарушенийобмена веществ организма, ведущихк возникновению диабета, ожирения (метаболического синдрома) и сердечнососудистых заболеваний человека разной тяжести.

MICROBIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL MARKERS IN DIAGNOSTIC OF HUMAN METABOLIC DISEASES

NadiyaV. Boyko
Uzhhorod National University, Faculty of Medicine,
Laboratory of Molecular Microbiology and Mucosal Immunology
46, Pidgirna St., Uzhhorod, 88000, Ukraine

The relationshipbetween the intensity ofnoninfectiouspathologies mainly defined as metabolic disordersandhost immune response, dietary intake andasits commensalgutmicrobiotais generally accepted.

In spite of this proved biological markersfor the detection ofhumanpathologiesassociated withimbalanced diets including metabolic syndromeandcardiovascular diseasewith increasedcoronaryrisk are still missing.There areonly few relevant recent publications describing the changes ofmicrobialorganismsand their possible role in the detection of such diseases.

Classic and modern experimental systems, animal and cells models for the standardization of preclinical study had been improved and applied. In order to find out the possible correlation between "classical diagnostic indicators" and suggested by us earlier markers in indicating of the targeted diseases clinical trials had been performed.The Pearson correlation coefficient based on estimation of random fluctuations of values which characterized the so-called "normal distribution" had been applied for the statistical data analyses.

The strong relationship between the representativesof commensal microbiota*Bifidobacterium-spp.*, being significantly decreased in patients with high levels of tested triglycerides (p = 0,51), serum cholesterol (p = 0,852), overweight (p = 0,751) and exceeded normal values in waist circumference that "abdominal type" of obesity (p = 0,656) had been defined in group in Group of patients with a diagnosis of "metabolic syndrome".

Reduced number of *Lactobacillus*spp. representatives in gut (fecal) content had a direct linear relationship with a high content of glycosylated hemoglobin in the blood of patients (p = 0,894) and reverse link with a decreasedtiters of lactose-positive *E. coli* (p = -0,896).

High concentrations of glycosylated hemoglobin led to a sharp increase in total IgA in the serum of patients (p = 0,894), growth titers TNF-α (p = 0,643) and decreased secretion IgAs in gut content filtrate (p = 0,860), which proves the inflammatory (immune) theory in initiating of diabetes (metabolic syndrome). Indicators of lipid metabolism such as triglycerides and cholesterol are connected with an increasing in number of representatives of Enterococcus spp. in gut (correspondingly p = 0,83 and p = 0,65) and with decreased level of IL-12 (p = 0, 853 and p = 0,636 respectively). Increased levels of IL-10 was observed mainly in patients with excess body weight (p = – 0,703), high levels of glycosylated hemoglobin (p = – 0,764) and high levels of cholesterol (p = – 0,577). Overweight (obesity) or increased waist circumference as a baseline abdominal distribution of adipose tissue were correlated with elevated titers of pathogenic microbiota (excess rate 10^4 CFU/g, p = 0,866).

In patients with cardiovascular diseases with a high coronary risk the potentially pathogenic enterobacteria are dominative representatives in gut microbiome.*Staphylococcus* spp., *Candida* spp. (p = 0,994 and p = 0,984) and *E. coli* lactose-negative correlated with high levels of urine acid de-

tected in the serum (p = 0,694) of the patients. Finally titers of *Proteus* spp. were accompanied by a significant increasing of secretion of IgA in gut content (p = 0,903); increased number of *Clostridium* spp. was connected to proportional increasing of TNF-α production (p = 0,582).

Newmicrobiological andimmunologicalbiomarkers as a result of evaluation of allthe complexitydiagnostic parameters had been proposed and probed.The knowledge obtained could be used in medicine forthe earlier detection of primarydisordersand conditions that leadto diabetes, obesity (metabolic syndrome) and cardiovascular disease.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИММУНОТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ПОМОЩЬЮ АНТИТЕЛ ПРОТИВ TN АНТИГЕНА

Филатов А.В., Мазуров Д.В.
ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России,
115478, Москва, Каширское шоссе, д. 24, корп.2

CD175 или Tn антиген является углеводной частью N-ацетил-галактозоамина, который через гликозидную связь присоединен к остаткам серина и треонина. Tn является опухолеассоциированным антигеном и обнаруживается более чем в 70% случаев опухолей легких, простаты и поджелудочной железы. Такая специфическая экспрессия делает Tn антиген перспективной мишенью для разработки притивоопухолевой вакцины, содержащей Tn эпитопы, использование анти-Tn антител для иммунотерапии, а также диагностики и визуализации опухолей. Несмотря на вполне определенную и казалось бы, простую структуру, реальная эпитопная архитектура Tn антигена имеет сложную природу. Некоторые из известных антител, полученных против Tn антигена, распознают исключительно только моносахарид GalNAcalpha. Для других клонов связывание антител зависит как от структуры гликана, так и от первичной последовательности белка. В дополнении к этому кластеризация двух или трех последовательных гликозилированных серинов и треонинов также вносит свой вклад в образование Tn эпитопа. Для того чтобы продвинуться в понимании природы Tn антигенности нами была получена панель моноклональных антител против Tn антигена. В качестве иммуногена была использована опухолевая Т-клеточная линия Jurkat, которая является Tn-позитивной вследствие мутации в шапероне Cosmc. Было изучено связывание полученных антител на панели синтетических углеводов, гликопептидов и О-гликозилированных белков. Антитела класса IgM связывались с терминальным GalNAc остатком вне зависимости от окружающего пептидного контекста. В противоположность этому антител класса IgG распознавали Tn антиген только в составе специфического пептидного мотива. Главным переносчиком Tn антигена являлись белки CD43 и CD162, а также некоторые изоформы CD45. Полученные нами антитела имели высокую специфичность по отношению к гликопротеину CD43 и являются перспективными для иммунотерапии Т-клеточной лейкемии.

PERSPECTIVES OF IMMUNOTHERAPY OF ONCOLOGICAL DESEASES USING THE HE MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST TN ANRIGEN

Filatov A.V., Mazurov D.V.
NRC – Institute of Immunology, FMBA of Russia,
115478, Moscow, Kashirskoye shosse, 24, bld.2

CD175 or Tn antigen is a carbohydrate moiety of N-acetylgalactosamine linked to the residue of amino acid serine or threonine in a polypeptide chain. The Tn antigen has been reported to be

expressed in 70–90% of breast, lung, prostate, and pancreatic tumors. Specific expression of the Tn antigen on the surface of malignant cells underlies the development of anti-cancer vaccine containing the Tn epitope. Alternatively, passive administration of antibodies directed against the Tn antigen had a potential effect in cancer therapy. Anti-Tn mAbs were also shown to be effective as diagnostic tools for *in vivo* imaging of Tn-expressing tumors. Despite a clear and defined structure of carbohydrate part of the Tn antigen, its real epitope architecture may have a more complex nature. Some of the reported Tn-specific Ab recognized only the GalNAc monosaccharide. For the other Abs, the binding was dependent on both the glycan and the peptide sequence. In addition, the clusters composed of two or three consecutive glycosylated serine/threonine (Ser/Thr) were also contributed in the formation of the Tn epitope. To further investigate the nature and complexity of the Tn antigen, we generated a panel anti-Tn mAbs. The binding analysis of anti-Tn mAbs with the array of synthetic saccharides, glycopeptides and O-glycoproteins revealed unexpected differences in specificities of anti-Tn mAbs. IgM mAbs bound the terminal GalNAc residue of the Tn antigen irrespective of the peptide context. In contrast, IgG mAbs recognized the Tn antigen in the context of a specific peptide motif (Glycobiology v. 22, p. 529, 2012). The major O-glycan carrier proteins CD43 and CD162 and isoforms of CD45 expressed on Jurkat cells were precipitated by anti-Tn mAbs with different affinities. In summary, our data suggest that Tn antigen–Ab binding capacity is determined by the peptide context of the Tn antigen, antigenic specificity of the Ab and class of the immunoglobulin. The newly generated anti-Tn IgG mAbs with the strong specificity to glycoprotein CD43 can be particularly interesting for the application in leukemia diagnostics and therapy.

СОЗДАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Михайлова Н.А., Грубер И.М., Курбатова Е.А., Егорова Н.Б., Ахматова Н.К., Семенова И.Б., Воробьев Д.С., Черкасова Л.С., Асташкина Е.А., Тарасова О.Е., Злыгостев С.А., Зверев В.В.
ФГБУ «НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова» РАМН,
105064 Москва, Малый Казенный пер. д. 5а

Ведущим возбудителем гнойно-септических инфекций и четвертой по частоте причиной летальности при инфекциях, связанных с оказанием медицинской помощи, является *Staphylococcus aureus*. Многочисленные исследования по разработке стафилококковых вакцин привели авторов к выводу о необходимости конструирования поливалентных вакцин с оптимальным набором антигенов, которые имели бы наиболее высокий вакцинный потенциал по активации резистентности к *S. aureus* и другим возбудителям внутрибольничных инфекций.

Целью данной работы является создание и проведение доклинических исследований вакцины на основе протективных антигенов стафилококка для профилактики и лечения внутрибольничных инфекций.

Для получения препарата расширен штаммовый состав по сравнению с ранее разработанной стафилококковой вакциной (патент № 2122862). Использованы реакторные методы культивирования, ультра и микрофильтрация, получены гипериммунные стафилококковые сыворотки и эритроцитарный диагностикум для оценки специфической активности вакцины в РТПГА, наработаны опытные образцы стафилококковой вакцины и установлена стабильность их свойств в течение длительного срока хранения.

Проведенные доклинические исследования выявили, что разработанная стафилококковая вакцина является стимулятором системы врожденного иммунитета по показателям пролиферативной и цитотоксической активности, активации дендритных клеток.

Выявлена существенная протективная активность стафилококковой вакцины при заражении мышей линии BALB/c вирулентными штаммами *S. aureus*. LD_{50} у интактных мышей составила 1,9 x10^8 микробных клеток, тогда как у вакцинированных этот показатель увеличился до более чем 1 x10^9. В сыворотках иммунизированных мышей установлено накопление IgG-антител в высоких титрах. Препарат не токсичен при тестировании на моделях острой и хронической токсичности. Доказано отсутствие аллергизирующего действия вакцины по данным активной анафилаксии.

Разрабатываемая стафилококковая вакцина предназначена для последующего проведения клинических исследований.

THE DEVELOPMENT OF MEDICINE FOR PROPHYLAXIS AND THERAPY PURULENT-SEPTIC NOSOCOMIAL INFECTIONS CAUSED BY OPPORTUNISTIC MICROORGANISMS

Mikhailova N.A., Gruber I.M., Kurbatova E.A., Egorova N.B., Akhmatova N.K., Semenova I.B., Vorobiev D.S., Cherkasova L.S., Astashkina E.A., Tarasova O.E., Zlygostev S.A., Zverev V.V.
Mechnikov Research Institute for Vaccine and Sera RAMS,
105064 Moscow, Maly Kazenniy per., 5a

The major pathogen of purulent-septic infections that takes the fourth place in mortality among the infections, connected with the need of medical rescue is *Staphycococcus aureus*. A lot of investigations carried out to create the staphylococcal vaccine led the authors to the idea of necessity to develop the polycomponent vaccine with the optimal antigen composition possesses the highest vaccine potential for activation the resistance to *S.aureus* and other nosocomial microorganisms.

The aim of the current work is the development and preclinical trials of the vaccine on the base of staphylococcal protective antigens for prophylaxis and therapy the nosocomial infections.

For development the new vaccine it was increased the number of strain compared with the previously obtained staphylococcal vaccine (Patent N 2122862). There were used the methods of reactor cultivation of stains, ultra- and micro filtration, obtained the hyperimmune sera and erythrocyte diagnosticum for evaluation of specific activity of the vaccine in the reaction of inhibition of passive hemagglutination test, obtained the experimental samples of staphylococcal vaccine with remained stable during the long period of time.

The performed preclinical trials revealed, that the developed staphylococcal vaccine stimulates the innate immunity system that was proved in proliferate and cytotoxic tests, by activation the dendritic cells.

It was revealed the significant protective activity of the staphylococcal vaccine in the mice Balb/c challenged with the virulent strain of *S.aureus*. LD_{50} in control mice was 1,9x10^8 microbial cells, in immune mice – 1x10^9 and higher. In the sera of immunized mice there were revealed the increase of IgG antibodies, that reached the high titers. The vaccine was non-toxic in the models of acute and chronic toxicity. It was proved the absence of allergizaition in the anaphylactic test.

The developed staphylococcal vaccine may be use for future clinical trials.

СОЗДАНИЕ ГУМАНИЗИРОВАННОГО МОНОКЛОНАЛЬНОГО АНТИТЕЛА ПРОТИВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ Е ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

Петров А.В., Ищенко А.М., Козлов А.П., Селезнева Л.А., Симбирцев А.С.
ФГУП «ГосНИИ ОЧБ» ФМБА России,
197110, С-Петербург, ул. Пудожская 7

Бронхиальная астма является самым распространенным аллергическим заболеванием. В России бронхиальной астмой страдает от 2,2 до 5-7% населения, значительная часть – в тяжелой форме, плохо поддающейся лечению кортикостероидами. Для лечения таких пациентов перспективно применение рекомбинантных антител против иммуноглобулина (Ig) E человека.

Получены две панели мышиных моноклональных антител против IgE человека, изучены их свойства, выбран кандидатный клон И24 с максимальной нейтрализующей активностью. Выделены, клонированы и отсеквенированы гены, кодирующие вариабельные фрагменты легкой и тяжелой цепей антитела И24, проанализированы их аминокислотные последовательности. Проведено молекулярное моделирование структуры вариабельной части нейтрализующих антител против IgE человека и их гуманизация путем замены опорных последовательностей на гомологичные последовательности антител человека. Результаты моделирования проверены экспериментально.

Созданы экспрессионные конструкции, содержащие гены, кодирующие легкую и тяжелую цепи рекомбинантных гуманизированных антител против IgE человека, получен штамм-продуцент на основе клеток CHO**.** Селекцией отобран высокопродуктивный субклон с удельной продуктивностью около 25 пг·кл$^{-1}$·сут$^{-1}$. Клетки субклона адаптированы к суспензионному культивированию в бессывороточной среде с химически определенным составом, отработана технология культивирования клеток в биореакторе с выходом рекомбинантных антител в культуральной жидкости 0,2 г/л.

Разработаны технология очистки, методы контроля качества антител. Нарабатывается субстанция с целью получения готовой лекарственной формы антител и проведения доклинических исследований.

Проект финансируется в рамках ФЦП «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу».

DEVELOPMENT OF ANTI-HUMAN IMMUNOGLOBULIN E HUMANIZED MONOCLONAL ANTIBODY FOR TREATMENT OF ALLERGIC DISEASES

Petrov A.V., Ischenko A.M., Kozlov A.P., Selezneva L.A., Simbirtsev A.S.
FGUP "SRIHPB" FMBA of Russia,
7, Pudozhskaya str., 197110, St-Petersburg

Asthma is the most wide-spread allergic disease. In Russia from 2,2% to 5-7% of population suffer from asthma. A significant part of patients has severe asthma that is difficult to treat by corticosteroids. A promising approach for treatment of such patients is recombinant antibody versus human IgE.

Two panels of mouse monoclonal antibodies were developed during the project and characterized thoroughly. A candidate clone И24 possessing neutralizing activity was identified. The genes encoding variable segments of light and heavy chain of the candidate antibody were isolated, cloned and sequenced. Using these data amino acid sequences were deducted and analyzed. Molecular modeling of variable fragment of И24 antibody was performed followed by humanization by CDR grafting into human framework. The results were tested experimentally.

Expression plasmids containing full-length light and heavy chain of recombinant humanized antibodies against human IgE were constructed and used to create recombinant CHO cell line. The high-producing clones were selected resulting in a subclone with quantitative productivity of 25 pg/cell/day. The cells of this clone were adapted to suspension culture using chemically-defined serum-free medium. A bioreactor process was established resulting in 0.2g/L yield of recombinant antibody.

Also, a purification technology together with methods of quality control of recombinant antibodies were developed. Laboratory Regulations for production of substance of recombinant antibodies were developed. Active substance is being produced for development of drug formulation and preclinical assessment.

The project is supported by FCP "Development of pharmaceutical and medical industry of Russian Federation for up to 2020 and further perspective".

СОЗДАНИЕ ИММУНОГЕННЫХ КОМПОЗИЦИЙ, СОСТОЯЩИХ ИЗ ИСКУССТВЕННЫХ СФЕРИЧЕСКИХ ЧАСТИЦ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ, И ИКОСАЭДРИЧЕСКИХ ВИРИОНОВ В КАЧЕСТВЕ АНТИГЕНОВ

Трифонова Е.А.[1], **Никитин Н.А.**[1], **Гмыль А.П.**[2], **Лазарева Е.А.**[1], **Карпова О.В.**[1], **Атабеков И.Г.**[1]
[1]*Кафедра вирусологии биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова;*
[2]*Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН*

Ранее нами было показано, что искусственные сферические частицы (СЧ), полученные при термической денатурации вируса табачной мозаики, обладают уникальными адсорбционными свойствами, могут служить универсальной платформой для презентации целевых белков и образовывать иммуногенные композиции [1,2]. Целью данной работы являлось изучение возможности адсорбции на поверхности СЧ нативных вирионов икосаэдрических вирусов, относящихся к различным таксономическим группам, и создание иммуногенных композиций из СЧ и икосаэдрических вирионов в качестве целевых антигенов. Были получены иммуногенные комплексы с вирусом мозаики цветной капусты (ВМЦК), вирусом мозаики костра, вирусом Менго, полиовирусом. Образование иммуногенных композиций «СЧ-вирионы» детектировалось с помощью методов электронной микроскопии. Методом непрямой иммунофлуоресцентной микроскопии показано, что вирионы в составе комплексов с СЧ сохраняли свою антигенную специфичность. Иммуногенные свойства комплексов «СЧ-ВМЦК» были исследованы на мышах. Контрольную группу мышей иммунизировали индивидуальными вирусными частицами. Показано значительное усиление иммунного ответа на ВМЦК в составе комплекса «СЧ-ВМЦК». Важно отметить, что в крови иммунизированных животных отсутствовали специфические антитела к СЧ. Следовательно, вирионы ВМЦК, покрывая поверхность СЧ-платформы, маскировали ее антигенные детерминанты. Иммуногенные комплексы «СЧ-вирионы» могут быть использованы для получения диагностических антител и в качестве кандидатных вакцин нового типа.

References:

1. Atabekov *et al.,* 2011. J Gen Virol 92, 453–456.
2. Karpova *et al.,* 2012. J Gen Virol 93, 400-407.

IMMUNOGENIC COMPOSITIONS ASSEMBLED FROM ARTIFICIAL SPHERICAL PARTICLES GENERATED BY TOBACCO MOSAIC VIRUS AND ENTIRE ISOMETRIC VIRIONS AS FOREIGN ANTIGENS

Trifonova E.A.[1], Nikitin N.A.[1], Gmyl A.P.[2], Lazareva E.A.[1], Karpova O.V.[1], Atabekov J.G.[1]

[1]*Department of Virology, Biology faculty of Moscow State University;*
[2]*Chumakov Institute of Poliomyelitis and Viral Encephalitides, Russian Academy of Medical Sciences*

We have recently reported that artificial spherical particles (SPs) generated by thermal remodeling of tobacco mosaic virus represent an universal particle platform that could form immunogenic compositions by binding a diversity of various proteins to their surface [1,2]. Here, we show that SPs are capable of binding to their surface different full-size native isometric plant and animal viruses including cauliflower mosaic pararetrovirus (CaMV), brome mosaic virus, and picornaviruses – poliovirus, the enterovirus, and a mengovirus, the cardiovirus. The formation of «SPs-entire virions» complexes was revealed by methods of electron microscopy. The data obtained by indirect immunofluorescence microscopy indicate that both of CaMV and poliovirus virions retained their antigenic specificity in «SPs-CaMV» and «SPs-poliovirus» compositions, respectively. The immunogenicity of «SPs-CaMV» complexes was examined. The CaMV virions were used alone in the control immunization. It was found that immunogenicity of CaMV within the SPs-CaMV complexes increased significantly. The level of SPs-specific antibodies and accessibility of SPs antigens within the SPs-CaMV complexes were examined. It was demonstrated that the antigenic sites of the SP-platforms were masked by CaMV virions linked to the SPs surface. We suggested that the «SPs-target virus» complexes could be employed in production of diagnostic antibodies and candidate vaccines assembly.

References:
1. Atabekov *et al.,* 2011. J Gen Virol 92, 453–456.
2. Karpova *et al.,* 2012. J Gen Virol 93, 400-407.

СОЗДАНИЕ СОВРЕМЕННОЙ ВИРУСБЕЗОПАСНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ПРЕПАРАТОВ ИММУНОГЛОБУЛИНА G (IGG) ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ

Зубкова Н.В., Анастасиев В.В., Казьянин А.В., Николаева А.М., Игнатьев Г.М., Лобастова А.К.

ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России,
127473, г. Москва, 2-й Волконский пер.,10

Препараты иммуноглобулинов представляют собой концентрат антител к большому числу антигенов, отражающих кумулятивное воздействие окружающей среды на популяцию доноров, а иммуномодулирующая терапия целого ряда инфекционных и аутоиммунных заболеваний имеет бесспорные преимущества по сравнению с химиотерапией и другими методами лечения. В настоящее время препараты иммуноглобулина G для внутривенного введения занимают лидирующие позиции на фармацевтическом рынке лекарственных препаратов из плазмы крови человека, фактически определяя экономическую эффективность и успех фракционирования плазмы крови в целом.

В последние 30 лет процесс производства иммуноглобулинов для внутривенного введения постоянно совершенствовался и был ориентирован главным образом на улучшение внутри-

венной переносимости и повышение вирусной безопасности препаратов, постепенно приводя к новым формам IgG с нормальным периодом полужизни и сохраненными эффекторными функциями.

В настоящей работе представлены результаты комплексного исследования в области обеспечения вирусной безопасности препаратов из плазмы крови человека, и разработана технология получения препаратов внутривенного иммуноглобулина нового поколения. Охвачены все аспекты проблемы, включая внедрение алгоритма входного контроля плазмы для фракционирования, стандартизацию исследований на вирусные маркеры, разработку новых технологических процессов с дополнительными стадиями редукции вирусов, а также создание методологии валидации вирусэлиминирующих и вирусинактивирующих технологий, контроль безопасности готовых лекарственных форм препаратов.

Результатом выполненной работы стали регистрация и успешное использование в клинической практике первого отечественного инактивированного сольвент-детергентным методом препарата «Имбиоглобулина», по показателям качества и безопасности соответствующего лучшим мировым аналогам. Кроме того, разработаны перспективные технологические схемы производства, позволяющие получать высокоочищенные и безопасные препараты иммуноглобулинов для внутривенного введения.

DEVELOPMENT OF THE MODERN VIRUS SAFETY TECHNOLOGIES OF INTRAVENOUS HUMAN IMMUNOGLOBULIN PREPARATIONS (IGG)

N.V.Zubkova, V.V.Anastasiev, A.V.Kazyanin, A.M.Nikolaeva, G.M.Ignatyev, A.K. Lobastova
Federal State Unitary Enterprise "SIC Microgen",
MoH Development of Russia, 127473 Moscow, 2-st Volkonskiy lane, 10

Immunoglobulin preparations are the antibody concentrate to a large number of the antigenes reflecting the cumulative influence of environment on the donor population, and immunomodulatory therapy of various infectious and autoimmune diseases has indisputable advantages in comparison with chemotherapy and other methods of treatment. The intravenous immunoglobulin G preparations currently occupy leading positions on the pharmaceutical market of products obtained by human plasma fractionation, actually defining cost-effectiveness and success of plasma fractionation industry as a whole.

Over the last 30 years, the production process of the intravenous immunoglobulin G has been constantly evolving and it focused mainly on improving of intravenous tolerance and increase of virus safety of products, gradually leading to new IgG forms with the normal period of half-life and preserved effector functions.

This complex work has been made to cover all aspects of the virus safety problem, including development the effective testing algorithm of the plasma for fractionation, standardization of the virus markers investigations, development of the modern production process with additional virus reduction stages, development the validation methodology of virus inactivation and removal procedures and control safety of medicinal preparations also.

The result of the accomplished work became registration and successful use in clinical practice of the first domestic preparation «IMBIOGLOBULIN» obtained by inactivated solvent – detergent method. This preparation corresponds to the best world analogues on its quality and safety indicators. Besides, perspective technological schemes of the production, allowing to receive high cleaned and safe preparations of immunoglobulins for intravenous administration are developed.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ВЫДЕЛЕНИЕ И СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ АЛЛЕРГЕНОВ КЛАССА LTP

Богданов И.В., Финкина Е.И., Стукачева Е.А., Овчинникова Т.В.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
Российской академии наук, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

В связи со стремительным ростом числа аллергических заболеваний актуальными задачами фундаментальной медицины на сегодняшний день являются идентификация и характеристика новых аллергенов, в том числе растительного происхождения. Широко распространенные в царстве растений липид-транспортирующие белки (LTP) являются пыльцевыми, пищевыми и латексными аллергенами, ответственными за развитие аллергических реакций различной степени тяжести. Природные и рекомбинантные LTP растений, а также их гипоаллергенные аналоги являются перспективными инструментами для создания современных диагностических наборов и эффективных аллерговакцин, позволяющих снизить иммунную реактивность организма и предотвратить развитие аллергических реакций.

Употребление в пищу бобовых растений часто является причиной развития местных и системных аллергических реакций. Ранее в семенах чечевицы обыкновенной *Lens culinaris* нами был обнаружен аллерген класса LTP, зарегистрированный в базе данных Международного союза иммунологических обществ (IUIS) под аббревиатурой Len c 3. Данный белок стал третьим аллергеном класса LTP, выделенным из бобовых растений. В качестве нового объекта исследований нами было выбрано растение того же ботанического семейства – горох посевной *Pisum sativum*. Структуры кДНК, кодирующие белки-предшественники двух новых LTP, были установлены в результате выделения суммарной РНК из проращённых семян гороха и проведения обратной транскрипции и быстрой амплификации 3'- и 5'-концевых фрагментов кДНК. Выделение и очистку новых LTP из экстракта семян гороха проводили с использованием методов диализа, ультрафильтрации, иммуноаффинной хроматографии и обращённо-фазовой ВЭЖХ. Рекомбинантный аналог Pru p 3 из персика, являющегося аллергеном класса LTP, был получен в результате его гетерологической экспрессии в клетках *E. coli* в составе гибридного белка, содержащего октагистидиновую последовательность и тиоредоксин. Сравнительная иммунологическая характеристика LTP из различных растений была проведена с использованием поликлональных кроличьих антител к Len c 3 чечевицы.

Работа поддержана грантами ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (соглашение № 8043 от 20.07.2012 г.) и Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 12-04-01224).

ISOLATION AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF NOVEL LTP-RELATED PLANT ALLERGENS

Bogdanov I.V., Finkina E.I., Stukacheva E.A., Ovchinnikova T.V.
Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Sciences,
Miklukho-Maklaya str., 16/10, 117997 Moscow, Russia

The prevalence of allergic diseases has increased dramatically over the last years. That is why currently the important aims of basic medical science are identification and characterization of novel allergens. Being widespread in plants, lipid transfer proteins (LTPs) are pollen, food and latex allergens responsible for different allergic reactions. Natural and recombinant plant LTPs as well as their hypoallergenic analogs are an available tool to develop modern diagnostic kits and effective vaccines to decrease the immune reactivity and prevent the allergic reactions.

Digestion of the food from the plants belonging to the legume family is often causes some local or systemic allergic reactions. Previously, we found the LTP-related allergen in the lentil *Lens culinaris* germinated seeds and registered it in the International Union of Immunological Societies (IUIS) database as Len c 3. This protein is the third LTP-related allergen isolated to date from the legumes. The second selected object is LTP from the pea *Pisum sativum*, a plant belonging to the same botanical family. Structure of cDNA coding the two novel LTP's precursors were determined due to the total RNA isolation from the germinated seeds, reverse transcription and rapid amplification of 3'- and 5'-cDNA ends (RACE). Isolation and purification of novel LTPs from the pea seed extract were performed by means of dialysis, ultrafiltration, immunoaffinity chromatography, and reversed-phase HPLC. The recombinant peach Pru p 3 analog, the LTP-related allergen, was obtained by heterologous expression in *E.coli* as a fusion protein contained octahistidine tag and thioredoxin. Comparative immunological characterization of the different plant LTPs was carried out with polyclonal rabbit antibodies against the lentil Len c 3 allergen.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the FTP "Scientific and Scientific-Pedagogical Personnel of the Innovative Russia in 2009-2013" (agreement No. 8043 of 20.07.2012), and by the Russian Foundation for Basic Research (project No. 12-04-01224).

ПОЛУЧЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К БЕЛКУ НУКЛЕОКАПСИДА ВИРУСА ГЕПАТИТА С

Порываева В.А., Агафонова О.А., Петрушкова О.С., Туманова О.Ю., Пыринова Г.Б., Поповский А.В., Казаринова Ф.С., Ястребова О.Н., Вторушина И.А., Гришаев М.П.
ЗАО «Вектор-Бест»,
п. Кольцово Новосибирской области, а/я 121

Диагностика вирусного гепатита С (ГС) сегодня основывается на выявлении антител к различным белкам вируса (ВГС). Однако наличие серонегативного окна в дебюте ГС, необходимость определения обострения заболевания и ответа на лечение делает также необходимым выявление вирусной нагрузки у больных. ПЦР-анализ, который сейчас применяется для этой цели, является сложным и дорогостоящим методом. Наличие набора реагентов для определения белка нуклеокапсида ВГС (HCcAg) в формате ИФА с использованием моноклональных антител (МоАТ) к этому антигену позволяет выявлять наличие вируса более простым и дешёвым методом. Сложность получения МоАТ к HCcAg обусловлена отсутствием доступного природного антигена со следующей из этого необходимостью использования рекомбинантного

аналога для иммунизации и скрининга, при этом для выявления низких концентраций HCcAg в крови нужно получить антитела с высоким аффинитетом к природному антигену. Одним из подходов является получение большого количества гибридом с антителами к рекомбинантному (r) HCcAg с последующим отбором антител, обладающих нужными для диагностики свойствами. Для иммунизации мышей линии BALB/c использовали 5 вариантов rHCcAg. Они отличались длиной аминокислотной последовательности HCcAg в составе рекомбинантного белка и презентацией антигена при иммунизации. Чтобы получить МоАТ с высоким аффинитетом использовали длительные схемы иммунизации с высокой бустерной дозой. Нами была получена представительная коллекция из 168 гибридом, секретирующих антитела к rHCcAg. Анализ специфичности полученных антител проводили в непрямом ИФА с 3-мя антигенами: полноразмерным rHCcAg генотипа 1b, укороченным rHCcAg этого же генотипа и химерным белком, содержащим аминокислотные последовательности HCcAg разных генотипов. Было показано, что 13 образцов гибридомных антител связывались с высокими титрами со всеми антигенами, а остальные показывали избирательную реакцию. Была исследована способность гибридомных антител конкурировать с поликлональными антителами к HCcAg из сывороток пациентов с установленным диагнозом ГС. Наиболее перспективные гибридомы клонировали и подбирали пары МоАТ для выявления HCcAg природного происхождения в сыворотках, позитивных по наличию РНК ВГС, в «сэндвич»-варианте ИФА. МоАТ антитела из нашей панели успешно использованы для конструирования диагностических наборов как для определения HCcAg, так и одновременной детекцииHCcAg и анти-ВГС антител в одной лунке.

PRODUCTION OF DIAGNOSTIC MONOCLONAL ANTIBODIES TO THE HEPATITIS C VIRUS NUCLEOCAPSID PROTEIN

Poryvaeva V.A., Agafonova O.A., Petrushkova O.S., TumanovaO.Yu., Pyrinova G.B., Popovsky A.V., Kazarinova F.S., Yastrebova O.N., Vtorushina I.A., Grishaev M.P.
JSC "Vector-Best", PO Box 121, Koltsovo, Novosibirsk Region

The present-day diagnostics of viral hepatitis C (HC) is based on the detection of antibodies to different proteins of virus (HCV). However, the presence of a seronegative window in the onset of HC and the need to determine the disease exacerbation and the response to treatment make it necessary to identify the viral load in patients. PCR test currently used for this purpose is a complex and costly method. The availability of a set of reagents for the determination of HCV nucleocapsid (HCcAg) in the ELISA format using monoclonal antibodies (MoAb) to this antigen provides an easier and cheaper method to detect the virus. The production of MoAb to HCcAg is complicated by the lack of an affordable natural antigen, which necessitates the use of its recombinant analog for immunization and screening. The antibodies with a high affinity to the natural antigen should be produced to detect low levels of HCcAg in the blood. One possible approach is to produce a large number of hybridomas with antibodies to the recombinant (r) HCcAgfollowed by the selection of antibodies possessing the required diagnostic properties. Five variants of rHCcAg were used to immunize BALB/c mice. They were characterized by a length of amino acid sequence of HCcAg in the recombinant protein and by antigen presentation at immunization. Long-term immunization schemes with a high booster dose were used to produce high-affinity MoAb. We obtained a representative collection of 168 hybridomas secreting antibodies to rHCcAg. The specificity of the obtained antibodies was analyzed by the indirect ELISA with 3 antigens: full-size rHCcAgof genotype 1b, truncated rHCcAg of the same genotype and chimeric protein containing amino acid sequences of HCcAg of different genotypes. It was shown that 13 samples of hybridoma antibodies bound to all antigens at high titers while the others displayed a selective reaction. The ability of hybridoma antibodies to compete with human polyclonal antibod-

ies to HCcAg from sera of patients with confirmed hepatitis C diagnosis was investigated. The most promising hybridomas were cloned, and pairs of MoAb were selected for the detection of HCcAg of natural origin in HCV RNA-positive sera with the sandwich ELISA. Monoclonal antibodies of our panel were successfully used to design diagnostic kits for the identification of HCcAg and for the simultaneous detection of both HCcAg and anti-HCV antibodies in the same well.

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПЕРСПЕКТИВНЫХ ПРЕБИОТИКОВ

Сафронова Л.А.[1], **Диденко Г.В.**[2], **Подгорский В.С.**[1], **Сухов Б.Г.**[3], **Джоев Ю.П.**[4],**Трофимов Б.А.**[3]

[1]*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, 03143,Киев, ул. Академика Заболотного,154;*

[2]*Институт экспериментальной патологии, онкологии и радиобиологии им. Р.Е.Кавецкого НАН Украины, 03022, Киев ул. Васильковская, 45;*

[3]*Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН, 664033, г.Иркутск, ул. Фаворского, 1;*

[4]*Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, Иркутск, ул. Тимирязева,16*

Изучены иммуномодулирующие свойства природных галактозосодержащих β-полисахаридов – арабиногалактана, арабиногалактана с флавоноидами, каррагинана, галактоманнана и их гидролизованных форм, которые являются перспективными пребиотиками.

Исследования проводили на мышах, которым перорально трехразово вводили исследуемые полисахариды. На 14-е сутки после последнего введения проводили оценку функциональной активности иммунных клеток – лимфоцитов (Лф) селезенки и перитонеальных макрофагов (Мф) в МТТ-тесте по способности проявлять цитотоксическое действие на клетки карциномы Эрлиха. Показано, что в группе животных, которые получали арабиногалактан с флавоноидами и каррагинан, цитотоксическая активность иммунных клеток как в отдельных тестах, так и в тестах при изучении их кооперативного взаимодействия была достоверно выше ($p \leq 0,05$) показателей в интактной группе. В группе животных, которые получали галактоманнан, цитотоксическая активность Лф и Мф достоверно не превышала показателей интактного контроля, но наблюдалась тенденция к значительному увеличению их активности. Введение аутологической сыворотки к тестам приводило к увеличению цитотоксической активности иммунных клеток во всех опытных группах в среднем на 10-12%. При этом самые высокие показатели наблюдали после введения арабиногалактана с флавоноидами и каррагинана. Таким образом, пероральное введение животным исследуемых β-полисахаридов приводит к значительной активации клеток иммунной системы и синтезу гуморальных факторов, которые значительно повышают цитотоксическую активность сыворотки крови.

IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF PERSPECTIVE PREBIOTICS

Safronova L.A., Didenko G.V., Podgorsky V.S., Sukhov B.G., Dzhioev Yu.P., Trofimov B.A.
[1]*Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NASU,*
03143, Kyiv, Zabolotnogo St., 154;
[2]*Institute of Experimental Pathology, Oncology and*
Radiobiology of Kavetsky of NASU,
03022, Kiev Vasilkovskaya St. , 45;
[3]*Institute of Chemistry of A.E.Favorskii, SB RAS, Irkutsk,664033, Favorskii St., 1;*
[4]*Scientific Center of Family Health and Human Reproduction Problems,*
SB RAMS, Irkutsk, Timiryazeva St., 16

Immunomodulating properties of the natural β-galactose-containing polysaccharides – arabinogalactan, arabinogalactan with flavonoids, carrageenan, galactomannan and their hydrolyzed forms, which expected to be promising prebiotics are studied.

Studies were performed on mice that were introduced orally specified polysaccharides three times (at intervals of 3 days). Using MTT assay on the 14th day after the last introduction it was evaluated the functional activity of immune cells – the spleen lymphocytes (LF) and peritoneal macrophages (MF) by the ability to exert cytotoxic effects on Ehrlich carcinoma cells. It is shown that in the group of animals that received arabinogalactan with flavonoids and carrageenan, the cytotoxic activity of immune cells in the individual tests and the tests of studying cooperative interaction was significantly higher ($p \leq 0,05$) rates in the intact group. In the group of animals that received galactomannan cytotoxic activity of LF and MF did not significantly exceed the value of the intact control, but there was a trend to a significant increase in their activity. Introduction of autologous serum to tests resulted increasing cytotoxic activity of immune cells in all experimental groups, in average on 10-12%. At the same time the highest rates were observed after introduction of arabinogalactan with flavonoids and carrageenan. Thus, oral introduction to animals studied β-polysaccharides leads to significant activation of immune cells and the synthesis of humoral factors that significantly enhance the cytotoxic activity of blood serum.

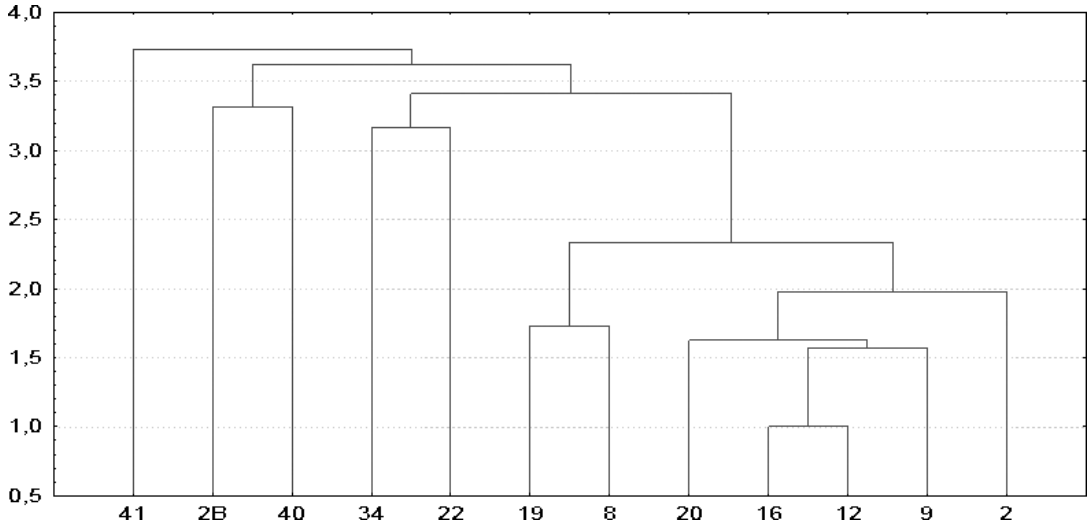
ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ FUSOBACTERIUM NECROPHORUM ДЛЯ СОЗДАНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Хузин Д.А.
заведующий лабораторией биотехнологии, кандидат ветеринарных наук, доцент
ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной
и биологической безопасности» (ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)
420075, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок-2
vetvrach-vnivi@mail.ru vnivi@mail.ru Телефон: (843) 2395320 Факс: (843) 2397133

Для изучения генетического полиморфизма *Fusobacterium necrophorum* использовали RAPD ПЦР-анализ, с помощью которого выявляли полиморфные состояния в большом числе локусов по всему геному и определяли геномные маркеры этого микроорганизма. Исследованию были подвергнуты 12 штаммов *Fusobacterium necrophorum*. Кластерный анализ, *F.necrophorum* по результатам RAPD-анализа с праймером сконструированным на основе нуклеотидной последовательности оперона лейкотоксина F.necrophorum изображен на дендрограмме (рис. 1).

Рисунок 1 – Дендрограмма распределения штаммов F.necrophorum в RAPD-ПЦР (по горизонтали – номера культур, по вертикали – генетические дистанции).



По результатам исследований, штаммы № 19, 8, 20, 16, 12, 9 и 2 вошли в один субкластер (индекс схожести – от 0,63 до 0,95). Высокий уровень схожести отмечался у штамма № 12 и 16 (индекс схожести 0,95), 19 и 8 (индекс схожести 0,78). Таким образом, выявленные с помощью RAPD-ПЦР анализа высокие уровни полиморфизма внутривидовых генетических дистанций свидетельствуют о генетической неоднородности *F.necrophorum*, выделенных от разных животных на территории Российской Федераци. С помощью произвольных праймеров, сконструированных на основе нуклеотидной последовательности оперона лейкотоксина *F.necrophorum*, можно проводить популяционный анализ выделенных изолятов и использовать для их паспортизации.

Кластерный анализ геномного полиморфизма *F.necrophorum* позволяют определять закономерности эпизоотического процесса и подбирать штаммы для создания диагностических и лекарственных препаратов при некробактериозе. С помощью RAPD-ПЦР анализа выявлены уровни полиморфизма внутривидовых генетических дистанций, свидетельствующие о неоднородности популяции *Fusobacterium necrophorum*. Уровень схожести культур находится в пределах от 0,11 до 0,67. На основе RAPD-ПЦР разработано генетическое маркирование *Fusobacterium necrophorum*, которое можно использовать в исследованиях по паспортизации культур. Во всех случаях положительные и отрицательные результаты бактериологических и биологических исследования биоматериала пораженных конечностей совпадали с результатами ПЦР-анализа с внутренними праймерами. При исследовании абсцессов печени совпадение составляло 50%. Синтезированные наружные и внутрение праймеры на ген лейкоцидина F. necrophorum были использованы нами для диагностики некробактериоза в пробах биологического материала в сравнении бактериологическими и биологическими исследованиями (табл.1).

Предлагаемая тест-система на основе RAPD-ПЦР позволяет с высокой степенью достоверности диагностировать некробактериоз в биологическом материале.

Таблица 1 – Результаты обнаружения возбудителя некробактериоза в пробах биоматериала.

Наименование хозяйства	БМ	Результаты исследований			
		БИ	ЧК	ПЦР с праймером	
				наруж.	внеш.
Республика Татарстан					
ООО Масловский Р-Слободского р-на	ф	+	+	-	+
	ср	-	-	-	-
ООО АкБарс-агро Арского р-на	ф	+	+	-	+
ООО Татарстан Высокогорсокго р-на	ф	+	+	-	+
	ср	-	-	-	+
ООО Йолдыз Лаишевского р-на	ф	+	+	-	+
	ср	-	-	-	+
ООО Нуркеево Сармановского р-на	ф	+	+	-	+
ООО Уразай Азнакаевского р-на	ф	+	+	-	+
	ср	-	-	-	+
	ап	+	+	-	+
Республика Чувашия					
ЗАО Акконт-агро Янтиковского р-на	ф	+	+	-	+
ООО Исток Шимуршинского р-на	ф	-	-	-	-
Республика Мордовия					
ОАО ПФ Атемарское	ф	+	+	-	+
ООО Рассвет Чамзинского р-на	ф	-	-	-	+
ЗАО ВКМ-агро Рузаевского р-на	ф	+	+	-	+
	ср	-	-	-	+
Ульяновская область					
СХП им. Калинина Вешкаимского р-н	ф	+	+	-	+
	ср	+	+	-	+
	ап	-	-	-	+
Самарская область					
ПСХ Фрунзе Кошкинского р-на	ф	+	-	-	+
СХПК Ермаково Кошкинского р-на	ф	-	-	-	+
Воронежская область					
СПК Лискинский Лискинского р-на	ф	+	+	-	+
Республика Удмуртия					
ООО Кипун Шарканского р-на	ф	+	+	-	+

CLUSTER ANALYSIS OF *FUSOBACTERIUM NECROPHORUM* STRAINS FOR

Khuzin D.A.

Abstract: by RAPD PCR studies we have conducted cluster analysis of 12 *Fusobacterium necrophorum* strains, which were isolated from different regions of the Russian Federation. Cluster analysis allows to determine the patterns of epizootic process and to select strains for a diagnostic and medical products in the case of necrobacteriosis.

Keywords: cluster analysis, strains, Fusobacterium necrophorum, RAPD PCR.

СОЗДАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ БОЛЕЗНЕЙ ПАЛЬЦЕВ И КОПЫТЕЦ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Хузин Д.А.
заведующий лабораторией биотехнологии, кандидат ветеринарных наук, доцент
ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной
и биологической безопасности» (ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)
420075, Республика Татарстан, г. Казань, Научный городок-2
vetvrach-vnivi@mail.ru vnivi@mail.ru Телефон: (843) 2395320 Факс: (843) 2397133

В последние годы, как в нашей стране, так и за рубежом, получили широкое распространение болезни пальцев и копытец (БПК) крупного рогатого скота, клинически проявляющиеся хромотой, носящие полиэтиологический (заразный или незаразный) характер. В основном БПК возникают из-за травм, стрессов, несбалансированного кормления, неправильного содержания и эксплуатации животных, ослабляющих организм, который в последующем инфицируется патогенной и условно патогенной микрофлорой. Наиболее злокачественно протекают БПК при инфицировании восприимчивых животных патогенными анаэробными бактериями – F.necrophorum. Поэтому для предотвращения угрозы инфицирования животных этой инфекцией и терапии БПК нами разработаны эффективные средства специфической профилактики и лечения:

1. формол-эмульсионная вакцина (ФЭВ) против некробактериоза крупного рогатого скота, гос. рег. № ПВР-1-1.7/02055;
2. лечебный препарат Фузобаксан (ФБС), гос. рег. № ПВР -3-5.11/027115.

При создании этих лекарственных средств использовали современные высокотехнологичные способы подготовки антигенного материала и масляного адъюванта для ФЭВ и антибактериальную субстанцию широкого спектра действия с пролонгирующими вспомогательными материалами для ФБС, позволяющими значительно повысить активность указанных препаратов.

За 2012 год было реализовано заказчикам 90 тыс. доз ФЭВ и 30 тыс. доз ФБС.

Использование указанных препаратов в общем комплексе с общехозяйственными и ветеринарно-санитарными мероприятиями позволило оздоровить (87%) и ослабить эпизоотическую ситуацию по некробактериозу (13%) обследованных хозяйств, а также на 77,9% уменьшить в этих хозяйствах число животных с БПК.

DRUGS DEVELOPMENT FOR PREVENTION AND THERAPY OF FINGERS AND HOOVES DISEASES OF CATTLE

Khuzin D.A.

Abstract: We have constructed drugs: formol-emulsion vaccine (FEV) against cattle necrobacteriosis, fuzobaksan (FBS) which allows sanitize cattle (87%) and reduce the epizootic situation on

necrobacteriosis (13%) of surveyed collective farms and also decrease number of animals diseases of the fingers and hooves for 77.9% in these collective farms.

Keywords: formol-emulsion vaccine (FEV), cattle necrobacteriosis, fuzobaksan (FBS), cattle diseases of the fingers and hooves, F.necrophorum.

СОЗДАНИЕ КОНЦЕНТРИРОВАННЫХ ФОРМ ПРЕПАРАТОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ

Короткова Т.В., Анастасиев В.В., Томилин М.В., Судакова В.В., Артеменко Е.С.
Филиал ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России в г. Нижний Новгород «Нижегородское предприятие по производству бактерийных препаратов «ИмБио».
603950, г. Нижний Новгород, ул. Грузинская, 44.

Интерес к концентрированным внутривенным иммуноглобулинам возрос с открытием возможности эффективного лечения аутоиммунных заболеваний, в частности синдрома Гийена-Барре, ревматоидного артрита, системной красной волчанки и др. Поэтому наряду с содержанием белка в препарате 5%, для лечебной практики требуются иммуноглобулины, с более высокой концентрацией IgG. Преимуществом концентрированной формы иммуноглобулина для внутривенного введения является увеличение скорости введения и уменьшение объема вводимого препарата. Целью данной работы явилось создание концентрированных иммуноглобулинов (10%) для внутривенного введения.

Разработана технологическая схема получения IgG для внутривенного введения 10%. Она включала в себя стадию очистки иммуноглобулинов от денатурированных белков и липопротеинов; удаление веществ, образующих комплексы с IgG, включая пирогены и вирусы, путем их адсорбции на геле гидроокиси алюминия; инактивацию вирусов с липидной оболочкой в присутствие сольвента и детергента; коррекцию физико-химических показателей, прогрев препарата при 37 °С в течение 48 часов и установление осмолярности растворов до параметров плазмы добавлением мальтозы.

Разработанная биотехнологическая схема получения новой формы вирусбезопасного внутривенного иммуноглобулина (10%), по физико-химическим и биологическим показателям соответствовала требованиям Европейской фармакопее. Препарат представлял собой высокоочищенный IgG с низкой антикомплементарной активностью, по молекулярным параметрам свыше 99,4% составляли мономеры и димеры. В нем отсутствовали гипотензивные вещества (активатор прекалликреина) и специфически агрегированные молекулы. Уровни антител к антиальфастафилолизину – 5 МЕ/мл, к вирусу кори – 50 МЕ/мл, титры изоагглютининов не превышали 1: 16.

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ БЕЛКА ТАММА-ХОРСФОЛЛА: СОЗДАНИЕ И ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОЧЕК

Крутецкая И.Ю., Самойлович М.П., Терехина Л.А., Климович В.Б., Климович А.В.
ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий» Минздравсоцразвития России
197758 г. Санкт-Петербург, п. Песочный, ул. Ленинградская 70

Белок Тамма-Хорсфолла (БТХ, уромодулин) – гликопротеин, экспрессированный исключительно на апикальной мембране клеток канальцевого почечного эпителия, формирующих тол-

стое восходящее колено петли Генле. С помощью гибридомной технологии создана панель из 8 моноклональных антител (МКАТ), распознающих 5 различных эпитопов на молекуле БТХ. Все распознаваемые МКАТ эпитопы сохраняются после дегликозилирования белка с помощью PNGase F. Среди полученных МКАТ – одно направлено к эластаза-чувствительной части белка, локализованной в пределах аминокислотных остатков (АКО) 1-291. Другое МКАТ – распознает эпитоп в пределах участка, сформированного АКО 292-614 и включающего домен ZP (Zona Pellucida). Четыре МКАТ, распознающие линейные эпитопы БТХ, могут быть использованы в исследованиях на основе Вестерн блоттинга и иммуногистохимии. Для выявления БТХ методом двухдетерминантного иммуноферментного анализа был подобран коктейль иммобилизованных на твердой фазе МКАТ, распознающих 3 разных эпитопа молекулы белка, для выявления иммунных комплексов использовано меченое МКАТ, распознающее 4-й эпитоп. Калибрующие пробы БТХ приготовлены на основе буферного раствора, способствующего сохранению растворимой формы белка. Линейный диапазон выявляемых в данном тесте концентраций БТХ находится в пределах 83 – 5000 нг/мл. Минимальная выявляемая концентрация БТХ составляет 30 нг/мл. Воспроизводимость анализа (CV) < 7,8%. Апробация теста проведена на материале, полученном от 75 здоровых доноров в возрасте 2-85 лет. Установлено, что уровень нормальной концентрации БТХ в моче находится в диапазоне от 20 до 125 мкг/мл.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России». Соглашение №8725.

MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST TAMM–HORSFALL PROTEIN: DEVELOPMENT AND PROSPECTIVE APPLICATION IN RENAL PATHOLOGY DIAGNOSTICS

Krutetskaia I.Yu., Samoylovich M.P., Terekhina L.A., Klimovich V.B., Klimovich A.V.
"Russian Research Center for Radiology and Surgical Technologies"
Leningradskaya 70, Pesochny, St.-Petersburg 197758

Tamm–Horsfall protein (THP, uromodulin) is a glycoprotein, expressed exclusively on apical membranes of renal epithelial cells, lining the distal ascending limb of loop of Henle. Here we report the development of 8 monoclonal antibodies (MAbs), which recognize 5 distinct epitopes on THP molecule. All the epitopes are ascribed to the protein core, as they are resistant to THP deglycosylation by PNGase F. One of the MAbs is directed against elastase-sensitive domain, located in between amino-acid residues 1-291. The epitope of the second MAb is mapped between a.a. 292-614 inside ZP- (Zona Pellucida) domain. Four MAbs specific for linear determinants were shown to be effective in detecting THP by Western-blotting and ELISA techniques. New "sandwich"-ELISA for THP quantitative detection was developed. A cocktail of MAbs directed against 3 different epitopes were solid-phase immobilized, while a single MAb against the 4th epitope was conjugated to HRP to produce the signal. Standard calibrating samples were prepared using specific buffered saline, which preserves the native soluble THP conformation. The assay performed linear detection in the range of THP concentrations between 83 – 5000 ng/ml, with the minimal detectable antigen concentration being 30 ng/ml and measurement reproducibility (CV= 7,8%). The sandwich-ELISA assay was approbated using urine samples from 75 healthy volunteer donors 2 and 85 years of age. The normal THP urine level was shown to vary in the range between 20 and 125 ug/ml.

The work was supported by the grant from Federal Targeted Programme "Scientific and academic-educational personnel for Innovative Russia". Agreement №8725.

ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ ДЕТЕКЦИЯ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА – КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОГО И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ОНКОМАРКЕРА

Пивень Н.В., Бураковский А.И., Лухверчик Л.Н., Карпенко Т.А., Тишкевич М.Н., Ястребова А.А.
ГНУ «Институт биоорганической химии НАН Беларуси»,
лаборатория медицинского микроанализа,
220141, ул. Купревича 5/2, Республика Беларусь

Количественное выявление опухолевых антигенов (онкомаркеров) и их идентификация позволяют понять молекулярно-клеточные основы опухолевой трансформации, оценить прогрессию опухоли и механизмы «ускользания» ее из-под иммунологического надзора, что является одним из важнейших направлений клинической и экспериментальной онкологии.

В контроле механизмов инвазии, неоваскуляризации и пролиферации опухолей участвуют ростовые факторы. Одним из наиболее значимых среди них является эпидермальный фактор роста (ЭФР), так как именно участие ЭФР и его рецепторов связано с нарушением передачи внутриклеточных митогенных сигналов, что обусловливает развитие более 70% всех злокачественных опухолей.

Ранняя диагностика онкозаболеваний и целесообразность проведения скрининговых обследований некоторых групп населения (групп риска) с целью своевременного выявления онкопатологии – одно из основных направлений современной онкологии. Однако, для этих целей необходимо использование высокочувствительных и специфичных методов идентификации и количественной детекции этих молекул, в частности, средств современного иммунохимического анализа. Целью исследования является разработка новых методов оценки концентрации ЭФР в сыворотке крови на основе принципов иммунохимического анализа («сэндвич»-варианта ELISA и экспрессного иммунохроматографического анализа), оценка их клинико-диагностической значимости и обоснование внедрения в медицинскую практику. Использование такого подхода позволит существенно повысить результативность ранней диагностики онкозаболеваний, ассоциированных с гиперэкспрессией ЭФР, осуществлять контроль и динамическое слежение за развитием патологического процесса, оценивать эффективность проводимого лечения (в том числе и хирургического) и прогнозировать течение болезни.

IMMUNOCHEMICAL DETECTION OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR – CLINICAL, DIAGNOSTIC AND PATHOGENETIC CANCER MARKER

Piven N.V., Burakovski A.I., Lukhverchyk L.N., Karpenko T.A., Tishkevich M.N., Yastrebova A.A.
Institute of Bioorganic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus,
Laboratory of Medical Microanalysis,
220141, Minsk, 5/2 Kuprevich Str. Belarus

Quantitative detection of tumor-associated antigens (cancer markers) and their identification allow to understand the molecular basis of malignant transformation, tumor progression and evaluate the mechanisms of its "escape" from immunological supervision, which is one of the most important directions in clinical and experimental oncology.

Growth factors involving in control of mechanisms of invasion, proliferation and neovascularization of tumors. One of the most important among them is the epidermal growth factor (EGF), because the participation of EGF and its receptor associated with the violation of the transmission of intracellular mitogenic signals, which leads to the development of more than 70% of all malignant tumors.

Early diagnostics of oncological diseases and suitability of screening tests of certain groups (risk groups) for early detection of cancer pathology – one of the main areas of modern oncology. However, for these purposes it is necessary to use highly sensitive and specific methods for identification and quantitative detection of these molecules, in particular, the means of modern immunochemical analysis. The purpose of this study is to develop new methods for estimation the concentration of EGF in serum on the basis of immunochemical analysis ("sandwich"-variant of ELISA and express immunochromatographic analysis), assessment of their clinical and diagnostic value and justification of the introduction into medical practice. This approach will significantly increase the effectiveness of early detection of oncological diseases associated with overexpression of EGF; control and monitoring of the development dynamic of the pathological process; evaluate the effectiveness of the treatment (including surgery) and the prognosis of the disease.

ФОРМИРОВАНИЕ МОНОДИСПЕРСНЫХ ЧАСТИЦ ХИМЕРНЫМИ БЕЛКАМИ НА ОСНОВЕ ПОВТОРОВ ГНРГ

Охрименко И.С.[1], **Шульга А.А.**[2], **Ткач Е.Н.**[1], **Печникова Е.В.**[3], **Соколова О.С.**[4], **Зейналов О.А.**[1]
[1]*ООО «ЦИТ «БиоФарм», 117246, Москва, Научный проезд, дом 20, стр. 3*
[2]*ИБХ РАН, 117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, ГСП-7*
[3]*ИК РАН, 119333, Москва, Ленинский проспект 59*
[4]*МГУ, 119991, Москва, Ленинские горы, ГСП-1*

Гонадолиберин (ГнРГ, GnRH) – этопептид, состоящийиз 10 а.о. – pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH_2, играющий ключевую роль в системе гормональной регуляции полового размножения млекопитающих. Регуляция уровня GnRH путем вызывания аутоиммунногоответа против него перспективно в медицине, в частности для лечения некоторых злокачественных опухолей у людей (Aguilaraetal., 2012; Wangetal., 2010), а так же в ветеринарии для регуляции полового поведения животных (Levyetal., 2004; Dunsheaetal., 2001; DeNysetal., 2010). GnRH не иммуногенен и, для того, что бы вызвать против него иммунный ответ, его конъюгируют с иммуногенными носителями (Meloenetal., 1995; Huleattetal., 2007). Кроме того, прибегают к увеличению дозы антигена при помощи мультиплицирования последовательности ГнРГ (Hsuetal., 2000; Songetal., 2011). В процессе реализации аналогичного подхода нами были получены различные варианты химерных белков, содержащихразличное количество повторовГнРГ в составе одной полипептидной цепи с такими белками как HBcAg (1-148 а.о.), флагеллин, тиоредоксин, SUMO ибио-таг. Оказалось, что все без исключения химерные белки, в которых количество копий ГнРГ превышалоили равнялось 7, образовывали в растворе монодисперсные частицы размером от 12 до 180 нм, что было подтверждено методами динамического светорассеяния и электронной микроскопии. Изолированная полипептидная последовательность, содержавшая только мультиплицированную последовательность ГнРГ (16 повторов), формировала частицы размером 61,4±3,6 нм. В отличие от этого,химерные белки, включающие в себя 4 и менее копийГнРГ, находились в растворе в виде мономеров, а HBcAg с одной копией ГнРГ на N-конце образовывал характерные вирусоподобные частицы. Таким образом, можно предположить, что движущей силой образования монодисперсных частиц, наблюдаемое нами в эксперименте, является специфическое взаимодействие последовательностей ГнРГ между собой. В настоящее время проводятся эксперименты по выяснению природы такого рода взаимодействий. Возможно, что данное свойство последовательности ГнРГ найдет применение в качестве основы для конструированиясложных наноразмерных комплексов.

FORMATION OF MONODISPERSE PARTICLES BY CHIMERIC PROTEINS BASED ON GNRH REPEATS

Okhrimenko I.S.[1], **Schulga A.A.**[2], **Tkach E.N.**[1], **Pechnikova E.V.**[3], **Sokolova O.S.**[4], **Zeynalov O.A.**[1]

[1]*Center for Innovative Technology "BioPharm", LLC,*
117246 Moscow, Nauchniyproezd, 20/3
[2]*Shemyakin and Ovchinnikov Institute of bioorganic chemistry, Russian Academy of Sciences,*
117997, Moscow, Ul. Miklukho-Maklaya, 16/10, GSP-7
[3]*Shubnikov Institute of Crystallography, Russian Academy of Sciences,*
119333, Moscow, Leninskiiprospekt 59
[4]*Lomonosov Moscow State University, 119991, Moscow, Leninskie Gory, GSP-1*

Gonadotropin-releasing hormone (GnRH, LHRH) is a tiny peptide composed of 10 amino acid residues – PGlu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH2, but it plays a key role in the hormonal regulation of mammalian reproductive system. Regulation of the level of GnRH by inducing autoimmune response against it is prospective not only in medicine, for the treatment of certain types of cancer in humans (Aguilara et al., 2012; Wang et al., 2010), but also in veterinary medicine – for the regulation of sexual behavior in animals (Levy et al., 2004; Dunshea et al., 2001; De Nys et al., 2010). GnRH is not immunogenic and, soit should be conjugated to immunogenic carrier when used in vaccine formulation (Meloen et al., 1995; Huleatt et al., 2007). In addition, the dose of antigen may be increasedby replicating sequence of GnRH (Hsu et al., 2000; Song et al., 2011).

In the implementation of the same approach, we obtained different chimeric proteins containing different number of GnRH repeatswithin a continuous polypeptide chain with such proteins as HBcAg (1-148 aa), flagellin and its conserved domains (Smith et al., 2003), thioredoxin, SUMO and bio-tag. It turned out that all of the chimeric proteins, in which the number of GnRH repeats isgreater than or equal to 7, formed monodisperse particleswith diameterfrom 12 to 180 nm. This was confirmed by means of dynamic light scattering and electron microscopy. The isolated polypeptide sequence that contains only the repeated sequence of GnRH (16 repeats), formed particles with diameter 61,4 ± 3,6 nm. In contrast, the chimeric proteins comprising 4 or less GnRH repeats, is in the form of monomers in solution, and HBcAg with one copy of GnRH at the N-terminus formed a specific virus-like particles. Thus, we can conclude that the driving force of the formation of monodisperse particles, observed in our experiments isspecific interaction between GnRH repeats. Currently, experiments are being conducted to elucidate the nature of these interactions. This property of GnRH repeatswould be probably used as the basis for designing complex nanoscale systems.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ОЧИСТКИ ПРЕПАРАТА АЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА

Томилин М.В., Короткова Т.В., Анастасиев В.В., Судакова В.В., Артеменко Е.С.
Филиал ФГУП «НПО «Микроген» Минздрава России в г. Нижний Новгород
«Нижегородское предприятие по производству бактерийных препаратов «ИмБио».
603950, г. Нижний Новгород, ул. Грузинская, 44.

Сывороточный альбумин человека является одним из основных и наиболее изученных белков плазмы крови человека. Многообразие функций, выполняемых им в организме, служит основанием для использования альбумина в лечении различных патологий. Связывание и транспорт сывороточным альбумином многих низкомолекулярных токсических веществ эндогенного и экзогенного происхождения делают возможным использование раствора альбумина при интокси-

кациях различной этиологии. Следовательно, производство препарата должно быть направлено на получение альбумина с высокой связывающей функцией. Однако, стабилизация растворов альбумина каприлатом натрия и/или N-ацетилтриптофаном, принятая нормативно-правовыми органами разных стран, в высоких концентрациях уменьшают связывающие свойства препаратов альбумина. В этой связи, целью данной работы явилось повышение связывающей способности препарата альбумина человека.

Установлено, что освобождение от стабилизаторов возможно методом ультрафильтрации. Степень удаления каприлата зависит от pH, в частности, при ультрафильтрации и диафильтрации на мембранах 30 кДа, в нейтральных условиях (после концентрирования раствора альбумина) уровень связанного каприлата натрия с альбумином снижался более чем в 2 раза, что позволило избегать дополнительных стадий очистки этанолом. Метод не оказывал влияние на физико-химические и биологические свойства препарата. При этом дополнительные стадии фильтрации, позволяли получать препарат с высокой электрофоретической однородностью (более 98%). Таким образом, предложенный альтернативный способ очистки препарата приводит к увеличению чистоты альбумина и его связывающей способности.

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ В ФАРМАЦИИ»
SECTION "BIOTECHNOLOGY IN THE PHARMACY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПРОТЕИНОВ МЕДИЦИНСКОГО И ВЕТЕРИНАРНОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСПРЕССИОННЫХ ПЛАТФОРМ НА ПРИМЕРЕ ЭКСПРЕССИИ ПЕПТИДА М2Е ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ ДЛЯ СОЗДАНИЯ УНИВЕРСАЛЬНОЙ ПРОТИВОГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ

Фирсов А.П.[1,2], **Тарасенко И.В.**[2], **Митюшкина Т.Ю.**[1,2], **Гиляшова Н.В.**[2], **Долгов С.В.**[1,2]
[1]*Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН, ул. Тимирязевская 42, Москва, Россия, 127550*
[2]*Филиал института биоорганической химии РАН им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова, г. Пущино Московской обл., проспект Науки,6, 142290*

Целью исследования являлась экспрессия пептида М2е вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/5/2005(H5N1) в растениях Ряски малой для последующей разработки съедобной вакцины. Для экспрессии был выбран N- терминальный фрагмент белка М2 длиной 30 а.о. (М130) В качестве адъюванта была использована клонированная нами последовательность субъединицы В рицина (RTB). Оптимизированная для экспрессии в растениях ряски последовательность М130 была клонирована в трансляционном слиянии с 3'- концом последовательности RTB. К 5'- концу полученной последовательности RTB-M130 был добавлена последовательность сигнального пептида PR1-белка табака, определяющего транспорт белка в апопласт, а к 3'- концу-фрагмент, кодирующий хитинсвязывающий домен хитиназы А (CBD), для последующей оптимизации количества антигена в растительном экстракте с использованием хитиновых носителей. Полученная конструкция PR1-RTB-M130-CBD была клонирована в растительный вектор pBI121 вместо гена β-глюкоронидазы под контролем 35S промотора CaMV. Результирующая плазмида была использована для трансформации растений ряски. Было получено 15 линии трансгенных растений. Методом вестерн-блот анализа, с использованием антител к RTB и М2е, показана экспрессия целевого белка в 4-ти линиях. В настоящее время проводится молекулярно-биологический анализ полученных линий, оценка накопления слитого белка PR1-RTB-M130-CBD и анализ его функциональности.

PRODUCTION OF RECOMBINANT PROTEINS FOR MEDICAL AND VETERINARY PURPOSES BASED ON PLANT EXPRESSION PLATFORMS ON THE EXAMPLE OF AVIAN INFLUENZA M2E PEPTIDE EXPRESSION FOR DEVELOPMENT AN UNIVERSAL INFLUENZA VACCINE

Firsov A.P.[1,2], **Tarasenko I.V.**[2], **Mitioushkina T.Y.**[1,2], **Gilyashova N.V.**[2], **Dolgov S.V.**[1,2]
[1]*All-Russian Institute of Agricultural Biotechnology,*
Russian Academy of Agricultural Sciences,
Timiryasev st. 42, Moscow, Russia, 127550
[2]*Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of RAS,*
Pushchino, Moscow Region, Russia, 142290

The aim of this study was to express M2e peptide from avian influenza virus A/chicken/Kurgan/5/2005(H5N1) in duckweed for following development an edible vaccine. The fragment of M2 protein including 30 N-terminal amino acids was selected for the expression (M130). The sequence of subunit B ricin (RTB), cloned by us earlier, was used as an adjuvant. M130 sequence optimized for expression in duckweed plants was cloned in translational fusion to the 3'- end of RTB sequence. The sequence of signal peptide of tobacco PR1 protein, defining the fusion protein transport to the apoplast, was added to the 5'-end of the resulting sequence of RTB-M130. The fragment encoding chitin-binding domain (CBD) of chitinase A (for further optimization the amount of antigen in plant extracts using chitin medium) was added to the 3'-end of RTB-M130. Obtained construct PR1-RTB-M130-CBD was cloned into the plant vector pBI121 instead of β-glucuronidase gene under the control of the CaMV 35S promoter. The resulting plasmid was successfully used for transformation of duckweed plants. As a result, 15 lines of the transgenic plants have been obtained. In 4 transgenic lines the target protein expression was shown by Western blot analysis using antibodies to RTB and M2e. The molecular-biological analysis of these lines, including the quantification of fusion protein PR1-RTB-M130-CBD expression and analysis of its functionality are in progress now.

ОТ РЕГУЛЯТОРНОГО БЕЛКА К ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОМУ ПЕПТИДУ

Гудашева Т.А.
НИИ фармакологии им. В.В.Закусова РАМН,
Москва, Балтийская 8

Многие регуляторные белки имеют в своем составе петлеобразные структуры, которые могут участвовать во взаимодействии с рецептором. К таким белкам относятся, например, нейротрофины (НТ) NGF и BDNF, которые играют ключевую роль в ЦНС, участвуя в процессах пролиферации, выживания и дифференцировки нейронов. Несмотря на большой терапевтический потенциал НТ, их непосредственное использование ограничено фармакокинетическими свойствами, плейотропностью и наличием побочных эффектов. НТ образованы 7 бета-тяжами, соединенными петлеобразными структурами. На примере NGF и BDNF мы показали, что наиболее функционально важным является участок бета-изгиба этих петель, состоящий из четырех аминокислотных остатков. Нами был разработан метод конструирования миметиков таких белков, состоящий в том, что центральная дипептидная часть бета-изгиба сохраняется, а примыкающие к ней аминокислотные остатки заменяются на их биоизостеры. Для имитации гомодимерной структуры НТ замещенные дипептиды были димеризованы через гексаметилендиаминовый спейсер. В случае NGF мы получили миметик 4-й петли ГК-2(гексаметилендиамид бис-(моносукцинил-глутамил-лизина)), обладающий нейропротективной активностью *in vitro*

в концентрациях до 10^{-9} М и *in vivo* в дозах 0,05 - 5 мг/кг *ip* и 5 - 30 мг/кг *per os* на моделях БА, БП и ишемии мозга у крыс. В случае BDNF был сконструирован миметик 4-й петли ГСБ-106 (гексаметилендиамид бис-(моносукцинил-серил-лизина)), проявляющий нейропротективную активность *in vitro* в интервале концентраций 10^{-5} – 10^{-8}М и антидепрессивную активность на животных моделях в дозах 0,1-1 мг/кг *ip* и в дозах 10-20 мг/кг *per os*. Основные эффекты нейротрофины осуществляют через тирозинкиназный Trk рецептор, NGF через TrkA, а BDNF – через TrkB. Взаимодействие НТ с Trk рецептором вызывает димеризацию, автофосфорилирование рецептора и активацию сигнальных путей, включая Akt и MAP(ERK)- киназный путь. Мы показали, что ГК-2 и ГСБ-106 вызывают фосфорилирование рецепторов NGF и BDNF, соответственно, а также Akt и ERK. Полученные данные подтверждают, что ГК-2 и ГСБ-106 являются миметиками НТ.

FROM REGULATORY PROTEIN TO THE PHARMACOLOGICAL ACTIVE PEPTIDE

T.A. Gudasheva
Zakusov's Institute of Pharmacology RAMS,
Moscow, Baltijskaya str., 8

Many of the regulatory proteins contain hairpin loops structures which are able to be involved in the interaction with the receptor. An examples of those proteins are neurotrophins (NT) NGF and BDNF that contain seven β-sheets united by surface hairpin loops 1, 2 and 4. NT play a key role in the CNS because participate in the proliferation, differentiation and survival of neural cells. In spite of the great therapeutic potential of NT, direct using of these proteins is limited by the pharmacokinetcs properties, pleiotropism and side effects. In the case of NGF and BDNF the most functional importance carry β-turns of hairpin loops. We developed the method for design of the mimetics of these proteins which is that the central dipeptide part of β-turn is kept and bordering amino acid residues are replaced by its bioisosters. For the imitation of the homodimeric structure of NT resulting substituted dipeptides were united via hexamethylenediamine spacer. In the case of NGF we received mimetic of loop 4 GK-2 (bis-(monosuccinyl-glutamyl-lysine) hexamethylenediamide), demonstrated neuroprotective activity *in vitro* in the nanomolar concentrations and *in vivo* in the dosage range 0.05-5 mg/kg *i.p.* and 5-30 mg/kg *p.o.* on the rat models of AD, PS and brain stroke. In the case of BDNF we designed the minetic of loop 4 GSB-106 (bis-(monosuccinyl-seryl-lysine) hexamethylenediamide), demonstrated neuroprotective activity *in vitro* in the concentration interval 10-5 – 10-8M and antidepressive activity on the animal models in the dosages 0.1-1 mg/kg *i.p.* and 10-20 mg/kg *p.o.* The main effects NT realized through tyrosinkinase Trk receptor namely NGF through TrkA and BDNF through TrkB. The interaction between NT and Trk initiate receptor dimerization, autophosphorylation and subsequent intracellular signaling including Akt and MAP (ERK) kinase pathway. We found that GK-2 and GSB-106 like NGF and BDNF stimulate Trk and Akt and ERK phosphorylation. Our results support that as GK-2 as GSB-106 are mimetics of NT.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ НАНОЧАСТИЦ С ДАУНОРУБИЦИНОМ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ

Никольская Е.Д.[1], **Воронцов Е.А.**[1], **Гукасова Н.В.**[1], **Северин С.Е.**[1], **Северин Е.С.**[2]
[1]*НИЦ «Курчатовский институт», НБИКС-центр, пл. Академика Курчатова д.1, 123182 Москва, Россия;*
[2]*Всероссийский научный центр молекулярной диагностики и лечения, Симферопольский бульв. д. 8, 117149 Москва, Россия*

Включение даунорубицина в состав полимерных носителей способствует оптимизации фармакокинетики препарата, пролонгации действия за счет постепенного высвобождения препарата из наноносителя, уменьшению побочных эффектов, вызванных высокой общей токсичностью препарата.

Даунорубицин включали в полимерные наночастицы на основе биодеградируемых полилактидгликолидов, используя метод «двойных эмульсий». Полученные наночастицы обладали средним размером 132 нм. Общее количество даунорубицина, включенного в частицы, составляло 2,98 масс%, а степень сорбции даунорубицина – 73 масс%.

Исследование цитотоксической активности наночастиц *in vitro* показало, что наносомальный даунорубицин проявлял активность в отношении опухолевых клеток линий K562, MCF-7 и P388, а также резистентных к антрациклинам сублиний K562Adr и MCF-7Adr. При этом цитотоксическая активность наночастиц в отношении клеток линии MCF-7Adr была в 2,5 раза выше, по сравнению с активностью свободного даунорубицина.

Исследование противоопухолевой активности наночастиц *in vivo* проводили на линии мышей DBA/2 с солидной формой лимфолейкоза мыши P388**.** Было показано, что применение наночастиц с даунорубицином приводило к увеличению средней продолжительности жизни мышей и уменьшению размера опухоли.

Таким образом, полимерные наночастицы с даунорубицином обладают высокой противоопухолевой активностью, а также позволяет преодолевать множественную лекарственную устойчивость опухолевых клеток.

При поддержке гранта Президента РФ НШ-4021.2012.7

DEVELOPMENT OF THE METHOD FOR THE PREPARATION OF POLYMERIC NANOPARTICLES WITH DAUNORUBICIN AND THE STUDY OF THEIR ANTICANCER ACTIVITY

E.D. Nikolskaya[1], **E.A.Vorontsov**[1], **N.V. Gukasova**[1], **S.E. Severin**[1], **E.S. Severin**[2].
[1]*National Research Center "Kurchatov Institute", NBICS Center, 123182, Akademika Kurchatova pl. 1, Moscow, Russia*
[2]*Russian Scientific Center of Molecular Diagnostics and Therapy, 117149, Simferopol'skii bul'var, 8, Moscow, Russia*

Incorporation of daunorubicin into the polymeric carriers optimizes the pharmacokinetics, prolongs the action due to sustained release of the drug from nanocarrier, reduces the side effects caused by high general toxicity of the drug.

Daunorubicin loaded polymeric nanoparticles based on biodegradable poly(lactide-co-glycolide) was prepared using double emulsion method. The mean size of nanoparticles was 132 nm. General daunorubicin loading into nanoparticles was 2.98% w/w and the degree of adsorption of daunorubicin – 73%.

In vitro cytotoxicity assay revealed that the nanosomal daunorubicin showed antiproliferative activity against K562, MCF-7 and P388 tumor cell lines as well as drug-resistant K562Adr and MCF-7Adr sublines. Thus, the cytotoxicity of nanoparticles against MCF-7Adr cells was 2,5 times greater as compared with free daunorubicin.

The *in vivo* antitumor activity studies were conducted on in DBA/2 mice bearing solid form of lymphocytic leukemia P388. It was shown that nanoparticles with daunorubicin effectively inhibited the tumor growth and increased the life span of mice.

Thus, our results demonstrate high antitumor activity of polymeric nanoparticles with daunorubicin and the possibility of overcoming the multidrug resistance in cancer cells.

Supported by a grant of the President of the Russian SS-4021.2012.7

СТЕРЕОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Петров В.И.[1], **Воронин С.П.**[2], **Спасов А.А.**[1]

[1]*Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, д. 1.*

[2]*ЗАО «Биоамид», 410033, г. Саратов, ул. Международная, д. 27.*

Фундаментальные открытия в области стереохимии, и особенно создание методов стереоселективного синтеза и производства хиральных катализаторов, позволяют воспроизводить новые лекарственные средства, лишенные недостатков характерных для рацемических фармацевтических субстанций [1]. Это определяет резкий рост лекарственных препаратов на основе хиральных субстанций. В этом плане существенный прорыв в получении стереоселективных субстанций обеспечивается биотехнологическими технологиями. С помощью иммобилизированных микробных клеток обладающих аспартазной активностью разработана технология получения в промышленных масштабах L-аспарагиновой кислоты [2], которая может широко использоваться в фармацевтической промышленности в качестве хелатирующего компонента. Удалось воспроизвести препарат K, Mg – L-аспарагиновой кислоты (аспаркам-L) [3], который в отличии от рацемата (панангин) и D-формы оказался менее токсичным, быстрее устранял дефицит магния при интоксикации фуросемидом, дигоксином и при алиментарном дефиците магния. Аспаркам-L оказывал более выраженное антиаритмическое действие в эксперименте при нарушениях ритма сердца обусловленных хлоридкальциевой, оубаиновой и аконитиновой интоксикациями. При клинических исследованиях аспаркам-L при 10-дневном введении больным с инфарктом миокарда оказывал выраженное стабилизирующее влияние на такие метаболические показатели плазмы крови, как содержание калия и магния, магния в эритроцитах, существенно снижал на 35-45% количество желудочковых экстрасистол и суправентрикулярных экстрасистол, вызывал депрессию сегмента ST электрокардиограммы и снижал число приступов стенокардии. Отмечалась статистически значимая позитивная динамика качества жизни больных (по результатам Миннесотского и SF-36 опросников) получавших препарат аспаркам-L по отношению к группе больных с рацемическим препаратом панангин.

1. Спасов А.А.и др. Фармакология стереоизомеров лекарственных веществ, Волгоград, 2011 г., 348 с.

2. Патент РФ RU 2174558 (2001). Способ получения L-аспарагиновой кислоты. Воронин С.П. и др.

3. Патент РФ RU 2229879 (2004). Лекарственное средство «Аспаркам-L» для регуляции метаболических процессов и способ его получения. Синолицкий М.К и др.

STEREOCHEMICAL ASPECTS OF DEVELOPING BIOTECHNOLOGICAL DRUGS

Petrov V.I.[1], **Voronin S.P.**[2], **Spasov A.A.**[1]
[1]*Volgograd State Medical University under Ministry for Health of Russian Federation, 1, Pavshikh Bortsov Square, Volgograd, 400131*
[2]*Bioamide ZAO 27, Mezhdunarodnaya str., Saratov, 410033*

Fundamental discoveries in stereochemistry, especially the development of technology for stereoselective synthesis and chiral catalysts, allow a reproduction of new drugs that are devoid of the shortcomings typical of racemic pharmaceutical substances [1]. This triggered a fast growth of drugs based on chiral substances, while biotechnology provided for a breakthrough in synthesizing stereoselective substances. Using immobilized microbial cells having aspartase activity it was possible to develop a technology of obtaining L-aspartic acid [2] on a commercial scale. L-aspartic acid may be widely used in pharmaceutical industry as a chelating agent. It was possible to synthesize a drug of K, Mg – L-aspartic acid (Asparcam-L) [3] that proved less toxic than the racemate (Panangin) or D-form; it also worked faster in eliminating magnesium deficiency following Furosemide or Digoxin poisoning and in alimentary magnesium deficiency. Asparcam-L showed a more pronounced antiarrhythmic effect in experimental rhythm disturbance due to calcium chloride, ouabain and aconitine intoxication. Clinical studies of Asparcam-L showed that upon 10-day administration of the drug to patients with myocardial infarction it produced a pronounced stabilizing effect on such indicators for the metabolic profile of blood plasma as potassium and magnesium content, and erythrocyte magnesium; it could decrease the number of ventricular extrasystoles and supraventricular extrasystoles by 35-45%; it brought about ST segment depression on ECG and reduced the number of angina episodes. Patients receiving Asparcam-L showed a significant improvement in the quality of life (according to the findings of Minnesota and SF-36 questionnaires) in comparison with the group of patients on racemic Panangin.

1. Spasov A.A.et al. Pharmacology of drug stereoisomers, Volgograd, 2011, 348 p.
2. RF Patent RU 2174558 (2001). Method for synthesizing L-aspartic acid. Voronin S.P.et al.
3. RF Patent RU 2229879 (2004). Asparcam-L medicine for regulation of metabolic processes and a method for its synthesis. Sinolitsky M.K.et al.

КЛЕТОЧНАЯ КУЛЬТУРА *THALICTRUM MINUS* L., КАК АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ

Савина Т.А., Тертичная Ю.М., Савин П.С., Цыбулько Н.С.
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений. РАСХН.117216, Москва.
E-mail: vilarnii@mail.ru

Одним из вторичных метаболитов, широко распространенных в растительном мире, является алкалоид берберин. Берберин – четвертичный изохинолиновый алкалоид, наиболее изученный в протобербериновой подгруппе. Распространен в растениях семейств Berberidaceae, Ranunculaceae, Menispermaceae, Rutaceae, Papaveraceae.

Берберин является антиоксидантом, спазмолитиком. Обладает выраженным желчегонным действием. На основе алкалоида берберина создан оригинальный лекарственный препарат Берберина бисульфат.

В России основным сырьем для получения берберина является кора корней барбариса обыкновенного и барбариса амурского.

В связи с ограниченностью природных ресурсов и особенностью проведения заготовительных работ поиск новых способов и источников для производства важнейших лекарственных препаратов достаточно актуален.

Как альтернативное сырье для получения алкалоида берберина биотехнологическим способом рассматривается клеточная культура василистника малого.

Суспензионная культура василистника малого стабильно сохраняет способность к синтезу алкалоида берберина. Берберин экскретируется клетками в культуральную жидкость. Содержание алкалоида берберина в суспензии клеток составляет в среднем 1,18% на сухую массу ткани. При этом 87% от содержания алкалоида приходится на культуральную жидкость.

Показана возможность культивирования суспензионной культуры василистника малого в полупромышленных ферментаторах. Клеточную биомассу получают путем выращивания в ферментаторе аэролифтного типа LH-4000 объемом 80 л.

CELL CULTURE *THALICTRUM MINUS* L., AS AN ALTERNATIVE SOURCE OF MEDICINAL HERBS

Savina T.A., Tertichnaya J.M., Savin P.S., Tsybulko N.S.
All-Russian Research Institute of Medicinal and Aromatic Plants.
RASHN. 117216, Moscow.
E-mail: vilarnii@mail.ru

One of the secondary metabolites widely distributed in the plant kingdom is the alkaloid berberine. Berberine – quaternary isoquinoline alkaloids, the most studied in protoberberinovoy subgroup. Distributed in the plant family Berberidaceae, Ranunculaceae, Menispermaceae, Rutaceae, Papaveraceae.

Berberine is an antioxidant, antispasmodic. Possesses strong choleretic action. On the basis of the alkaloid berberine creation of an original drug berberine bisulfate. In Russia, the main raw material for production of berberine is the bark of the roots of barberry and common barberry Amur. Due to the limited natural resources and a harvesting feature works find new ways and sources for the production of essential medicines rather relevant. As an alternative raw material for alkaloid berberine biotechnological method considered rue small cell culture.

Suspension culture rue small stably retains the ability to synthesize the alkaloid berberine. Berberine is excreted by the cells in the culture fluid. Alkaloid berberine in cell suspension averaged 1.18% by dry weight of tissue. In this case, 87% of the alkaloid content accounts for the culture fluid. The possibility of cultivation of suspension culture in semi rue small fermenters. Cell biomass produced by cultivation in the fermenter aeroliftnogo type LH-4000 volume of 80 l.

ВЫСОКООЧИЩЕННЫЕ РЕКОМБИНАНТНЫЕ ЦИТОХРОМЫР450 ЧЕЛОВЕКА – МИШЕНИ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Сушко Т.А.[1], Струшкевич Н.В.[2], Гилеп А.А.[1], Усанов С.А.[1]
[1]*Институт биоорганической химии НАН Беларуси,*
220141, г. Минск, ул. Купревича 5/2
[2]*Structural Genomics Consortium, University of Toronto,*
Toronto, Ontario, Canada M5G 1L7

Изучение стероид-гидроксилирующих систем, содержащих в качестве терминальной оксидазы цитохромР450, является актуальной задачей, поскольку любые нарушения в работе данных

систем приводят к серьёзным метаболическим нарушениям и тяжёлым патологиям у человека. Цитохромы P450, катализирующие ключевые этапы биосинтеза стероидных гормонов, представляют собой важные молекулярные мишени для действия лекарственных препаратов.

Стероид-17α-гидроксилаза, 17,20-лиаза (CYP17) катализирует две независимые реакции в одном активном центре: 17α-гидроксилазную и 17,20лиазную, причём соотношение этих активностей является физиологически важным и определяет направление биосинтеза стероидных гормонов либо по пути кортикоидных либо половых гормонов. Ингибирование CYP17 активно используется в лечении андроген-зависимого рака простаты, занимающего лидирующие позиции среди онкологических заболеваний у мужчин. Перспективным направлением в терапии больных раком молочной железы является использование ингибиторов ароматазы (CYP19), катализирующейреакцию конверсии андрогенов (андростендиона и тестостерона) в эстрогены (эстрон и эстрадиол).Альдостерон-синтаза (CYP11B2) играетключевуюрольвобразовании альдостерона у человека. Повышение уровня альдостерона в крови, возникающее вследствие дисрегуляции ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, может приводить к развитию гипертензии и сердечной недостаточности. Блокирование биосинтеза альдостерона, осуществляемое на уровне CYP11B2, является активно развивающимся направлением в лечении гипертензии.

С целью выяснения структурно-функциональных закономерностей, лежащих в основе формирования активного центра цитохромов P450, участвующих в гидроксилировании стероидных гормонов, нами разработана уникальная технология гетерологической экспрессиив *E.coli*,выделения и очистки рекомбинантных CYP17, CYP19, CYP21, CYP11B2человека, изучены их структурные и функциональные особенности. Исследование взаимодействия рекомбинантных белков с субстратами и ингибиторами, а также молекулярное моделирование и молекулярная динамика позволили сделать выводы о наиболее оптимальной структуре низкомолекулярных лигандов, потенциальных лекарственных средствах.

HIGHLY PURIFIED RECOMBINANT CYTOCHROMEP 450 HUMANAS TARGETS FOR DEVELOPMENT OF THE NEW DRUGS

Sushko T.A.[1], Strushkevich N.V.[2], GilepA.A.[1], UsanovS.A.[1]
[1]*Institute of bioorganic chemistry NAS Belarus,*
220141, Minsk, Kuprevicha5/2
[2]*Structural Genomics Consortium, University of Toronto,*
Toronto, Ontario, CanadaM5G 1L7

Studies on the steroid hydroxylation systems, containing cytochrome P450 as terminal oxidase, are actual task since any abnormalities in operation of this systems lead to the serious metabolic disorders and may cause severe pathology. Cytochrome P450s, which are responsible for the key steps of steroid hormone biosynthesis, are important drug targets.

Steroid 17α-hydroxylase, 17,20-lyase (CYP17) catalyzestwodistinct reactions, 17α-hydroxylase and 17,20lyase, at the single active center.The ratio of these activities is physiologically important and directs steroid hormone biosynthesis to the production of corticosteroids or sex hormones. Inhibition of CYP17 iswidely usedin therapy of androgen-dependent prostate cancer, which is a leading cancer in men. Inhibition of aromatase (CYP19) catalyzed reactions of androstendione and testosterone conversion to estrone and estradiol, is a perspective strategy in breast cancer therapy. Aldosteronesynthase (CYP11B2) plays a key role in formation of aldosterone in human. Increasedlevelof aldosterone in blood that results from disregulation of renin-angiotensin-aldosterone system, may be implicated in the pathogenesis of hypertension and heart failure. Blocking of aldosterone synthesis by mediating CYP11B2 activity is a recently emerging pharmacological therapy for hypertension.

With an aime to elucidate structural and functional basis for formation of the active site of cytochrome P450s, involved in steroid hormone hydroxylation, we have developed a unique technique for heterologous expression in*E.coli*and purification of recombinant CYP17, CYP19, CYP21, CYP11B2human,their structural and functional features have been studied. Investigation of the interactions of recombinant proteins with substrates and inhibitorsas well as molecular modeling and molecular dynamic allow to make decision about optimal structure of the low molecular weight ligands, potential drugs.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *STREPTOMYCES LAVENDULAE* ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗЫ – КОМПОНЕНТА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

Яковлева Е.П., Колодязная В.А., Булдакова Т.В.
ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская Химико-Фармацевтическая Академия
197376 Россия г. Санкт-Петербург ул. Профессора Попова д.14 лит. А

На сегодняшний день анализ содержания холестерина в сыворотке или плазме крови считается одним из самых распространенных клинических исследований. Причиной тому является широкое распространение сердечно-сосудистых заболеваний атеросклеротической природы.

Анализ содержания холестерина осуществляют с помощью диагностических тест-систем, который основан на ферментативной реакции разложения холестерина под воздействием ферментов холестеролэстеразы, холестеролоксидазы и пероксидазы, потребность в которых постоянно растет. Фермент холестеролоксидазу получают биотехнологическим способом за рубежом. В России этот фермент не производится. Целью исследования является разработка технологии получения отечественной холестеролоксидазы.

Штамм-продуцент холестеролоксидазы был отобран из коллекции кафедры биотехнологии СПХФА среди 175 культур актиномицетов, образующих в условиях глубинной ферментации холестеролоксидазу с уровнем активности достаточным для последующего выделения фермента. Показано, что культура гомогенна и стабильно сохраняет ферментативную активность при двукратном пересеве. Исследованы питательные потребности культуры, что позволило создать сбалансированные питательные среды для культивирования *Streptomyces lavendulae* и разразработать технологию выделения фермента из культуральной жидкости.

В настоящий момент исследовательские работы направлены на совершенствование и оптимизацию технологии получения холестеролоксидазы за счет увеличения продуктивности штамма *Streptomyces lavendulae* путем естественной изменчивости и мутагенеза, а также стабилизацию ферментативной активности путем отработки условий хранения продуцента при низких температурах. Получение высокоактивного штамма позволит проводить дальнейшую оптимизацию условий культивирования, масштабирование процесса, отработку параметров выделения и очистки фермента с высоким выходом целевого продукта.

OPTIMIZATION OF CULTIVATION CONDITIONS TO WORK OUT CHOLESTEROL OXIDASE (COMPONENT OF CHOLESTEROL SCREENING TESTS) PRODUCTION TECHNOLOGY BY *STREPTOMYCES LAVENDULAE*

Jakovleva E.P., Kolodyaznaya V.A., Buldakova T.V.
Saint-Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy
Professora Popova street 14 lit. A Saint-Petersburg Russia 197376

Nowadays one of the most popular clinical trials is cholesterol testing due to the wide spread of atherosclerotic heart disease.

Cholesterol level tests are carried out with the help of medical diagnostic test systems and based on enzymatic cleavage of cholesterol by cholesterol esterase, cholesterol oxidase and peroxidase, which creates an increasing demand for these enzymes. The cholesterol oxidase enzyme is produced biotechnologically by overseas companies. In Russia this enzyme is not manufactured at all. The goal of the current research is to work out a domestic cholesterol oxidase production technology.

The cholesterol oxidase producing strain has been isolated from the culture collection of 175 strains of actinomycetes. Exposed to submerged fermentation these actinomycetes produce cholesterol oxidase that is active enough for the following enzyme isolation. It is shown that the cell culture is homogeneous and keeps stable enzyme activity in double repeated passages. The analysis of the feeding necessities of the cell culture allowed to create a balanced medium for the cultivation of Streptomyces lavendulae and to select the technology which helps to isolate the enzyme from the fermentation medium.

Current research works are aimed to perfect and optimize the cholesterol oxidase production technology. The first direction of the optimization is connected with an increase in the productivity of the Streptomyces lavendulae strain by means of natural variability and mutagenesis, the second objective of the research being stabilization of the enzyme activity by exploring how to store it at low temperature. Successful selection of a high activity strain will allow to conduct subsequent optimization of the cultivating conditions and will result into a higher output of the target product.

РАЗВИТИЕ СПОНТАННОГО ЛЕЙКОЗА У МЫШЕЙ ЛИНИИ АКР И ВЛИЯНИЕ НА НЕГО АНТИОКСИДАНТА ФЕНОЗАНА

Ерохин В.Н., Кременцова А.В., Бурлакова Е.Б.
Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля Российской академии наук.
Россия, Москва, 119334, Косыгина, 4.

Изучение влияния различных низкоинтенсивных физико-химических факторов на живые организмы становится актуальным в свете экологических проблем. Нами было показано, что облучение мышей линии АКР в низких дозах увеличивает процент возникновения лейкозов, ускоряет гибель животных-опухоленосителей, сокращая среднюю и максимальную продолжите6льность жизнри. Поэтому встает проблема поиска профилактических веществ, которые устраняли бы возникновение и развитие злокачественных новообразований. В качестве такого вещества нами был выбран синтетический антиоксидант β-(4-гидрокси-3.5-дитретбутилфенил) пропионовая кислота (фенозан). Этот препарат был синтезирован в Институте биохимической физики РАН и показал противоопухолевую и радиозащитную активность. Целью настоящей работы явилось изучение действия фенозана в различных дозах на продолжительность жизни и развитие спонтанного лейкоза у мышей линии АКР. Следует отметить, что параметры этого спонтанного лейкоза у мышей сходны с таковыми у человека. Фенозан вводился в физиологическом растворе в дозах 10^{-4} моль/кг и 10^{-14}моль/кг, четыре раза с интервалом 24 часа в объёме

0.2 мл мышам в возрасте3-4 месяца. Определялись продолжительность жизни (количественная аппроксимация функцией Гомпертца), частота возникновения лейкозов в контрольной и экспериментальной группах. Доза 10^{-4} моль/кг замедлила развитие лейкозного процесса, средняя продолжительность жизни увеличилась на 37 суток. Доза 10^{-14} моль/кг фенозана также замедлила течение лейкозного процесса: антиоксидант не только увеличил среднюю продолжительность жизни более чем на сорок дней и уменьшил возникновение лейкозов на 6%, но и увеличил максимальную продолжительность жизни на 69 суток. По-видимому, использование фенозана в сверхмалых дозах перспективно для профилактических целей.

THE DEVELOPMENT OF SPONTANEOUS LEUCOSIS IN AKR MICE AND EFFECT OF ANTIOXIDANT – PHENOSAN

Erokhin V.N., Krementsova A.V., Burlakova E.B.
Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,
Kosygina 4, Moscow, 119334 Russia

Effects of different low-level physical-chemical factors in particular low-level irradiation on living organisms became topical in the context of a scope of environmental problems. As it is well known, one of the serious long-term biological aftereffects of harmful environmental factors (radiation, carcinogen) is increase of oncological diseases risk. We was shown with irradiation of AKR mice results in an increase in the leucoses incidence rate, acceleration of the death rate among animals – leucoses-carriers , and shortening of the average and maximum life-spans of sick animals. In this way we face a problem of searching prophylactic substances that can be an obstacle to development of malignant neoplasms. As this substance we have chosen synthetic antioxidant β-(4-hydroxy-3.5-ditertbutilphenyl) propionic acid (phenosan). It was synthesized in Emanuel Institute Biochemical Physics, RAS and it demonstrated antitumor and radioprotective activity. The aim of this work is to evaluate the effect of phenosan at various doses of the life span and development of spontaneous leucosis at AKR mice. It should be noted that origination, clinical symptoms and pathological and morphological parameters of spontaneous leucosis in the mice are similar to that of leucosis in man. The phenosan was introduced with physiological solution at 10^{-4} mol/kg and 10^{-14}mol/kg doses, 4 times administration at the 24-hours interval, at 0.2 ml/mouse volume, at age 3-4 month. We determined the life-spans, leucosis frequency in the control and experimental groups, and changes in thymus and spleen. The 10^{-4} mol/kg dose of phenosan slowed down of leucosis process: mean life-span is increased by 37 days. The 10^{-14} mol/kg dose of phenosan also slowed down of leucosis process. Antioxidant not only increased mean life-span more than 40 days and decreased percentage of leucosis cases by 6% but it increased maximum life-span by 69 days. The ultra-low dose of the substance appeared promising to be used for prophylactic purposes.

ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА, СОДЕРЖАЩИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПЕПТИДА М2Е ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ H5N1 В ТРАНСЛЯЦИОННОМ СЛИЯНИИ С ГЕНОМ СУБЪЕДИНИЦЫ Б РИЦИНА КЛЕЩЕВИНЫ (*RICINUS COMMUNIS*)

Тарасенко И.В.[1], **Фирсов А.П.**[1,2], **Долгов С.В.**[1,2]
[1]*Филиал института биоорганической химии РАН им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова, г.Пущино Московской обл, проспект Науки,6, 142290*
[2]*Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии РАСХН, ул. Тимирязевская 42, Москва, Россия, 127550*

Перспективным направлением развития современной биотехнологии является использование растительных систем в качестве биофабрик по производству фармацевтически значимых белков. Растительные экспрессионные системы обладают значительным преимуществом перед другими биосистемами поскольку позволяют во-первых, синтезировать практически любые белки, а во -вторых, существенно снизить стоимость конечного продукта. Целью данного исследования было клонирование и анализ экспрессии в растениях табака пептида М2е белка М2 вируса гриппа птиц A/chicken/Kurgan/5/2005 (H5N1) для последующей разработки съедобной вакцины ветеринарного назначения. Последовательность 5'- концевого фрагмента гена М2, включающего пептид М2е, была синтезирована методом лигирования синтетических олигонуклеотидов, с предварительной оптимизацией кодонного состава для экспрессии в растениях. Следующим этапом работы стало клонирование гена М2е в трансляционом слиянии с нуклеотидной последовательностью адьюванта. В качестве такового нами была выбрана последовательность субъединицы Б рицина (RTB) – лектина из клещевины (*Ricinus communis)*, которая может быть использована в качестве адьюванта при производстве «съедобных» вакцин растительной природы. Гены субъединицы Б рицина и М130 были клонированы в трансляционном слиянии на основе бинарного экспрессионного вектора pBI121 под контролем 35S промотора вируса мозаики цветной капусты CaMV. Плазмида, обозначенная как pBIspRM130, была использована для трансформации растений табака *Nicotiana tabacum*. В результате было показано присутствие слитого протеина RTB-M130 в трех линиях трансгенных растений табака.

OBTAINING AND ANALYSIS OF TRANSGENIC TOBACCO PLANTS CONTAINING M2E PEPTIDE SEQUENCE OF AVIAN INFLUENZA VIRUS H5N1 IN TRANSLATIONAL FUSION WITH THE GENE SUBUNIT B OF RICIN CASTOR (*RICINUS COMMUNIS*)

Tarasenko I.V.[1], **Firsov A.P.**[1,2], **Dolgov S.V.**[1,2]
[1]*Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of RAS, Pushchino, Moscow Region, Russia, 142290*
[2]*All-Russian Institute of Agricultural Biotechnology, Russian Academy of Agricultural Sciences, Timiryasev st. 42, Moscow, Russia, 127550*

A promising direction in the development of modern biotechnology is the use of plant systems as bioreactor for the production of pharmaceutically relevant proteins. Plant expression systems have a significant advantage over other biological systems as it allows, first, to synthesize almost any protein, and second, to significantly reduce the cost of the final product. The purpose of this study was the cloning and expression analysis in tobacco plants M2e peptide M2 protein of avian influenza virus A/

chicken/Kurgan/5/2005 (H5N1) for the subsequent development of edible vaccines for veterinary use. The sequence of the 5'-end fragment of the gene M2, which includes M2e peptide, was synthesized by ligation of synthetic oligonucleotides with preliminary optimization of codons for expression in plants. The next step was the cloning of the gene M2e in translational fusion with the nucleotide sequence of adjuvant. As such, we chose the sequence of ricin B subunit (RTB) – lectin from the castor bean (*Ricinus communis*), which can be used as an adjuvant in the production of "edible" vaccines plant origin. The genes of ricin B subunit and M130 were cloned in translational fusion based on a binary expression vector pBI121 under the control of the 35S promoter of cauliflower mosaic virus CaMV. The plasmid, pBIspRM130, was used for transformation of plants *Nicotiana tabacum*. The result showed the presence of the fusion protein RTB-M130 in the three lines of transgenic tobacco plants.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПРОВЕДЕНИЯ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В

Гущина Е.С.[1], **Мукомолов С.Л.**[2], **Няникова Г.Г.**[1], **Синайская Е.В.**[2]
[1]*Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), 190013, Санкт-Петербург, Московский пр., д. 26*
[2]*Научно – исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, 197101, Санкт-Петербург, ул., Мира, д. 14*

Одной из наиболее значимых областей применения полимеразной цепной реакции является диагностика инфекционных заболеваний. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) обладает высокой чувствительностью, позволяет обнаружить единичные вирусные частицы в биоматериале. Высокая специфичность метода ПЦР обусловлена выявлением уникального, характерного только для данного возбудителя фрагмента ДНК. Однако существенным недостатком метода является появление неспецифичных продуктов реакции.

Цель исследования – оптимизация условий проведения полимеразной цепной реакции для диагностики вирусного гепатита В.

Для увеличения чувствительности и специфичности ПЦР и уменьшения накопления неспецифичных фрагментов использовали метод «Nested PCR». В отличие от обычной ПЦР, «Nested PCR» включает в себя два цикла амплификации и позволяет обнаружить низкую и очень низкую виремию (< 10^3 копий ДНК вируса). Амплификация геномной ДНК вируса гепатита В осуществлялась в два этапа с использованием внешних и внутренних праймеров длиной 20 и более пар нуклеотидов. Однако иногда среди продуктов реакции наблюдалось накопление неспецифичных фрагментов, происхождение которых трудно объяснить. А поскольку эти фрагменты могут мешать последующему анализу, то в ходе работы были оптимизированы следующие параметры: концентрация dNTP, ионов Mg^{2+}, ДНК-полимеразы, праймеров и количество вносимой ДНК. Оптимизация условий метода «Nested PCR» позволила уменьшить количество неспецифичных продуктов реакции и получить большое количество индивидуальных последовательностей ДНК с целью дальнейшего определения последовательности нуклеотидов в pre-S'- S' участке генома изолятов вируса гепатита В.

OPTIMIZATION OF CONDUCT POLYMERASE CHAIN REACTION FOR DIAGNOSTICS OF HEPATITIS B VIRUS

E.S. Gushchina [1], **S.L. Mukomolov** [2], **G.G. Nyanikova** [1], **E.V. Sinyayskaya**[2]
[1]*Saint-Petersburg State Institute of Technology (Technical University),*
26, Moskovsky Prospect, 190013, St.Petersburg, Russia
[2]*Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology,*
14, St. Mira, 197101, Saint-Petersburg, Russia

One of the most important applications of polymerase chain reaction is the diagnosis of infectious disease. Polymerase chain reaction (PCR) has high sensitivity, can detect single virus particles in the biomaterial. The high specificity of the PCR method due to the identification of a unique, specific for the pathogen DNA fragment. However, appearance of non-specific reaction products is essential disadvantage of this method.

The purpose of the study is optimization of polymerase chain reaction for the diagnosis of hepatitis B virus.

To increase the sensitivity and specificity of the PCR and to reduce the accumulation of non-specific fragments, there we used a «Nested PCR» method. Unlike the conventional PCR, «Nested PCR» includes two rounds of amplification and can detect low-and very low viremia ($<10^3$ DNA copies of the virus). Amplification of genomic DNA of the hepatitis B virus was carried out in two stages, with the use of external and internal primers length of 20 or more nucleotides. Though, among the reaction products, occasionally accumulation of non-specific fragments has been observed, the origin of which is difficult to explain. Since these fragments may interfere with subsequent analysis, during the work the following parameters of PCR has been optimized: concentration of dNTP, ions Mg^{2+}, DNA-polymerase, primers and the amount of overhead DNA. Optimization of the method «Nested PCR» will reduce the amount of non-specific reaction products, and get a large number of individual DNA sequences in order to further determine the sequence of nucleotides in the pre-S'-S 'region of the genome of hepatitis B virus isolates.

РАЗРАБОТКА НОВОГО МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ АКТИНОМИЦЕТОВ-ЭНДОФИТОВ И ВЫЯВЛЕНИЕ КУЛЬТУР, ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Мачавариани Н.Г., Галатенко О.А., Терехова Л.П.
Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение
"Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков
им. Г.Ф.Гаузе" Российской Академии медицинских наук,
119021, Россия, Москва, Большая Пироговская ул., д. 11

Проводилось выделение актиномицетов–эндофитов из листьев лекарственных растений, собранных в Москве и Московской области.

Для выделения актиномицетов был использован метод, разработанный нами на основе известных методик, основная модификация которого заключалась в обработке листьев растворами биологически активных веществ растительного происхождения – гетероауксина (20 мкг/мл) и циркона (1 мкг/мл).

Исследования показали, что применение гетероауксина стимулирует выделение актиномицетов–эндофитов, увеличивая количество выделенных колоний в 3 раза, а циркона – в 2,5 раза по сравнению с контролем. Всего в чистую культуру выделено 120 штаммов эндофитных актиномицетов, из которых 70 штаммов (85%) обладали антибиотической актив-

ностью. Использование гетероауксина и циркона позволило выделить актиномицеты из всех исследованных растений. Следует отметить, что колонии, выросшие после обработки листьев гетероауксином, характеризовались лучшим ростом. На основе антибиотической активности и таксономических признаков было отобрано 11 культур, перспективных для изучения образуемых ими антибиотиков.

Таким образом, модифицированный в данной работе метод выделения культур актиномицетов из листьев лекарственных растений, заключающийся в предобработке листьев раствором гетероауксина или циркона, способствует более эффективному выделению актиномицетов перспективных для дальнейшего биотехнологического применения.

DEVELOPMENT OF A NEW METHOD OF ISOLATING ACTINOMYCETES-ENDOPHYTES AND DETECTION OF CULTURES, POTENTIAL FOR BIOTECHNOLOGICAL USE

Machavariani N.G., Galatenko O.A., Terekhova L.P
Federal State Institution " Institute of New Antibiotics G.F.Gauze "
of the Russian Academy of Medical Sciences,
119021, Russia, Moscow, Bolshaya Pirogovskaya., 11

Actinomycetes-endophytes were isolated from leaves of medicinal plants collected in Moscow and Moscow region.

To isolate actinomycetes we used a method developed by us on the basis of known techniques. The main modification consisted in the treatment of leaves with solutions of biologically active substances of plant origin – heteroauxin (20 µg / ml) and zircon (1 µg / ml).

Researches showed that the application of heteroauxin stimulates the isolation of actinomyces–endophytes, increasing the quantity of the isolated colonies 3 times, and zircon – 2,5 times in comparison with control. By using of heteroauxin and zircon actinomyces were isolated from all studied plants. In total 120 strains actinomyces were isolated in pure culture from which 70 (85%) showed antibiotic activity to the test microorganisms. With the use of heteroauxin and zircon we could isolate the actinomycetes from all the plants. It should be noted that the colonies grown after heteroauxin treatment, were showed better growth. On the basis of antibiotic activity, morphological and culture characteristics 11 cultures were selected, perspective for studying them as antibiotic producers.

Thus, a modified method for isolating cultures of actinomycetes from the leaves of medicinal plants, consisting in pretreatment the leaves with a solution of heteroauxin or zircon, promotes more effective isolation of actinomycetes promising for future biotechnological applications.

ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛАГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ГРИБОВ КЛАССА BASIDIOMYCETES

Мацюлявичене А.В., Дубинина И.В., Шамцян М.М.
Санкт-Петербургский государственный технологический
институт (технический университет),
190013, Россия, Санкт-Петербург, Московский проспект, д. 26

Актуальной задачей медицинской биотехнологии является разработка лекарственных препаратов и медицинских изделий для лечения повреждений кожи. Перспективными лекарственными веществами для этих целей являются протеазы.

Коллагеназа обладает протеолитической активностью и избирательно действует на коллаген – основной компонент соединительной ткани, вызывая его деструкцию. В настоящее время известно довольно много ферментных препаратов с коллагенолитическим действием.

Коллагеназы обнаружены у пиявок, различных насекомых, у креветок и различных видов крабов. Однако далеко не все они находят применение в медицине. Это нередко связано с ограниченным количеством исходного материала, поэтому поиск новых, нетрадиционных источников коллагеназ имеет большое значение.

Нами были обнаружены высокоактивные протеазы коллагенолитического действия у грибов класса базидиомицетов.

С целью оптимизации условий культивирования и повышения выхода фермента было изучено влияние соотношения C:N в составе глюкозо-пептонной среды. Глубинные культуры выращивали в течение 7 суток, после этого нативный раствор отделяли от биомассы. С 3 по 7-е сутки отбирали пробы культуральной жидкости для дальнейшего исследования содержания белка и определения активности. Наибольшую коллагенолитическую активность проявила культура гриба Coprinus sp. на среде с соотношением C:N 1,5:1 на 5-е сутки выращивания.

THE STUDY OF THE COLLAGENASE ACTIVITY OF BASIDIOMYCETES MUSHROOMS

Matsyulyavichene A.V., Dubinina I.V., Shamtsyan M.M.
St. Petersburg State Technological Institute (Technical University),
190013, Russia, Saint-Petersburg, Moscow Avenue, 26

The development of biotechnological drugs and medical devices for the treatment of skin lesions is an actual problem. Promising drug compounds for this purpose are the proteases.

Collagenase has proteolytic activity and selectively acts on collagen – the main component of connective tissue, causing its destruction. At present we know quite a lot of enzyme preparations with collagenolytic activity. Collagenases have been found in leeches, various insects, shrimps and a variety of crabs. However, not all of them are used in medicine. This is often due to limited source material, so screening for new, innovative sources of collagenases is important.

We have found highly collagenolytic protease activity in Basidiomycetes fungi.

In order to optimize the culture conditions and improve the yield of the enzyme the effect of C: N ratio in the glucose-peptone medium was studied. Submerged cultures were grown for 7 days, after which the native solution was separated from the biomass. From the 3rd to 7th day of cultivation native liquid samples were taken for analysis of protein content and activity determination. Collagenolytic activity showed the highest culture of the fungus Coprinus sp. on the medium with the ratio C: N 1,5:1 on the 5th day of cultivation.

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ГЕМИНА (ПГ) С ПОМОЩЬЮ LUX – БИОСЕНСОРОВ

Пономарёв К.А.[1], Сидорук К.В.[2], Желтухина Г.А.[1], Окороченков С.А.[1], Небольсин В.Е.[3]
[1]*Московский государственный университет*
тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова
119571, г. Москва, просп. Вернадского, 86
[2]*Государственный НИИ генетики и селекции промышленных микроорганизмов,*
117545, г. Москва, 1-й Дорожный проезд, 1
[3]*ООО «Фарминтерпрайсез» 119571, г. Москва, просп. Вернадского, 86*

Ранее нами в модельной системе с электродом Кларка была продемонстрирована способность аминокислотных и пептидных производных гемина (ПГ) катализировать окисление ПНЖК кислородом воздуха[1], а также косвенными и расчётными методами подтверждено

участие гидроперекиси ПНЖК в этом процессе. Учитывая присутствие в составе клеточных мембран бактерий липидов, содержащих ПНЖК, нами было предпринято экспериментальное исследование возможного участия пероксидов в механизме взаимодействия ПГ с живой бактерией, которое может приводить к деструкции её мембраны.

Измерение степени окислительного стресса проводилось в соответствии с методикой [2] с использованием lux – биосенсоров на основе штамма бактерии *E. coli K12*, чувствительного к перекиси водорода. Для ряда ПГ, судя по сигналу люминометра, через 18 ч в среде наблюдалось выраженное накопление пероксида, соответствующее содержанию перекиси около 10^{-3} М и в целом коррелирующее с заметной антибактериальной активностью ПГ.

Полученные данные свидетельствуют о том что взаимодействие ПГ с живой бактерией действительно включает элементы окислительного механизма, а также о применимости lux – биосенсоров для исследования механизмов антибактериального действия веществ. Обсуждаются также альтернативные механизмы накопления пероксидов в среде при взаимодействии ПГ с бактерией.

1. Roginsky V.A., et al. J. Agric. Food Chem. 2007, V. 55, №16, p. 6798-6806
2. Котова В.Ю., Манухов И.В., Завильгельский Г.Б.Биотехнология, 2009, №6 с.16-25

THE MECHANISM OF HEMIN DERIVATIVES (HD) ANTIBACTERIAL ACTIVITY INVESTIGATION USING LUX – BIOSENSORS

Ponomarjov K.A.[1], Sidoruk K.V.[2], Zheltukhina G.A.[1], Okorochenkov S.A.[1], Nebolsin V.E.[3]
[1]*M.V. Lomonosov Moscow State University of Fine Chemical Technology, 119571, Moscow, Vernadsky av.,86*
[2]*Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, 117545, Moscow 1-st Dorozhniy pr., 1*
[3]*LTD "Pharmenterprises", 119571, Moscow, Vernadsky av., 86*

Earlier we have in the model system with the Clark electrode demonstrated the ability of amino acid and peptide derivatives of hemin (DH) to catalyze the oxidation of fatty acids by antmospheric oxygen [1], as well as indirect and computational methods confirmed the participation of hydroperoxide PUFA in the process. Taking in to consideration the presence in the cell membranes of bacteria lipids containing PUFAs, we undertook the experimental study of the possible involvement of peroxides in the mechanism of HD interaction with live bacteria, which can lead to the destruction of its membrane.

The measurement of the oxidative stress degree was conducted in accordance with the procedure [2], using lux – biosensors based on the strain E. coli K12, which is sensitive to hydrogen peroxide. Judging by signal of luminometer 18 h for some DH the significant accumulation of peroxide in medium was observed; the corresponding peroxide content comprised about 10^{-3} M and generally correlated with a significant antibacterial activity of DH.

These data suggest that the interaction of DH with live bacteria do include the elements of the oxidative mechanism, and the applicability of lux – biosensors to study the mechanisms of antibacterial agents. We also discuss the alternative mechanisms of peroxides accumulation in the medium during the interaction DH with the bacterium.

1. Roginsky V.A., et al. J. Agric. Food Chem. 2007, V. 55, №16, p. 6798-6806
2. Kotova V.Ju., Manuhov I.V., Zavil'gel'skij G.B. Biotechnology, 2009, №6, p.16-25

СЕРИН-ТРЕОНИНОВЫЕ ПРОТЕИНКИНАЗЫ *MYCOBACTERIUM TUBERCLOSIS* – МИШЕНИ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Михайлова Е.Б., Осолодкин Д.И., Палюлин В.А., Зефиров Н.С.
Химический факультет МГУ ИМЕНИ М.В. ЛОМОНОСОВА,
Москва, 119991, ЛЕНИНСКИЕ ГОРЫ, д. 1, стр. 3

Новыми мишенями для разработки противотуберкулезных препаратов являются серин-треониновые протеинкиназы (СТПК) *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*): PknA, PknB, PknD, PknE, PknF, PknG, PknH, PknI, PknJ, PknK и PknL. Среди них наиболее изучены киназы PknB и PknG: доступны кристаллические структуры их активных форм, известен ряд соединений, проявляющих ингибиторную активность по отношению к ним в тестах *in vitro*. Наша работа была посвящена молекулярному моделированию остальных девяти протеинкиназ по гомологии, а также поиску новых селективных ингибиторов всех СТПК *M. tuberculosis*..

Идентичность аминокислотной последовательности PknB и моделируемых белков составляет более 40%. Поэтому возможно моделирование по гомологии с использованием кристаллических структур активной формы PknB (коды доступа в банке белковых структур PDB 1O6Y, 2FUM, 1MRU, 3F61, 3F69) в качестве шаблонов. Для моделирования по гомологии была использована программа Modeller 9.11, оптимизация проводилась методом моделирования отжига. Валидация моделей проводилась на основе оценочных функций z-score, DOPE и карт Рамачадрана.

Был проведен виртуальный скрининг потенциальных ингибиторов протеинкиназ PknB и PknG методом молекулярного докинга с помощью программного пакета OpenEye в программе Fred2.5.5. На основе оценочных функций и визуального анализа были отобраны потенциальные ингибиторы PknB и PknG, которые были отправлены на испытания *in vitro*. На основе серий истинных ингибиторов, описанных в литературе, и ложных ингибиторов, выявленных с помощью испытаний, была проведена валидация систем виртуального скрининга для поиска селективных ингибиторов протеинкиназ *M. tuberculosis*.

THE SERINE/THREONINE PROTEIN KINASES FROM *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* AS TARGETS FOR THE ANTITUBERCULAR DRUGS

Mikhaylova E.B., Osolodkin D.I., Palyulin V.A., Zefirov N.S.
Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University,
Leninskie Gory, 1/3, Moscow, Russia, 119991

The serine/threonine protein kinases from *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*) are promising targets for the development of antitubercular drugs. The most studied among them are PknB and PknG. Structural information is avaliable for their active forms and for several inhibitor activity compounds was show *in vitro*. Our work is devoted to the homology modeling of the remaning *Mtb* protein kinases (PknA PknD, PknE, PknF, PknH, PknI, PknJ, PknK и PknL) and searching for new selective inhibitors of these serine/threonine protein kinases.

Sequence identity between PknB template and modeled proteins is over 40%. Therefore, the crystal structures of active forms of PknB (PDB IDs: 1O6Y, 2FUM, 1MRU, 3F61, 3F69) were selected as templates for homology modeling. Multiple sequence alignment the studied protein kinases was performed with ClustalW2. Modeller9.11 software was used to construct the homology models of remaining kinases. Subsequent optimization of models was performed by simulated annealing. Validation of models was based on the values of the scoring functions – z-score and DOPE as well as on Ramachandran plot analysis.

Docking-based virtual screening of potential inhibitors of protein kinases PknB and PknG was performed using the OpenEye software suite. Based on the scoring function and visual analysis potential inhibitors of PknB and PknG kinases were selected for futher *in vitro* assays. The validation of virtual screening system was performed based on the true inhibitors described in the literature and decoys identified in the *in vitro* assay results.

ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРЕДСТАВИТЕЛЯХ РОДА КАЛАНХОЕ (*KALANCHOE* L.)

Сажина Н.Н.[1], **Лапшин П.В.**[2], **Загоскина Н.В.**[2]
[1]*Учреждение Российской Академии наук*
Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН,
119334, Москва, ул. Косыгина, 4.
[2]*Учреждение Российской Академии наук*
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева РАН;
127276, Москва, ул. Ботаническая, 35,

Одной из актуальных задач современной фармацевтической науки является создание новых лекарственных средств на основе растительного сырья. В отечественной медицине широко применяют препараты из компонент некоторых суккулентных растений, в частности представителей рода Каланхое, в основном Каланхое перистого (*K.pinnata)* и Каланхое Дегремона *(K.daigremontiana)*. Их биохимический состав и целебные свойства хорошо изучены. Однако результатов целенаправленных научных исследований антиоксидантных (АО) свойств этих и других видов Каланхое практически нет. Современные методы исследования этих свойств позволяют на более высоком уровне изучить их и осмыслить лекарственную ценность того или иного растения. В настоящей работе проведен сравнительный анализ результатов измерений содержания АО фенольного типа и АОА соков различных видов Каланхое тремя методами: амперометрическим, вольтамперометрическим и хемилюминесцентным с целью выявления среди них наиболее активных продуцентов биологически активных соединений. Объектами исследования являлись соки 34-х представителей рода Каланхое, выращиваемых в коллекции суккулентов в Институте физиологии растений им. К.А.Тимирязева РАН в Москве. Среди изученных образцов выявлены два наиболее активных с точки зрения АОА и содержания фенольных АО представителя рода Каланхое: *K.scapigera* и *K.rhombopilos.* Все три метода демонстрируют значительно более высокие значения АОА соков этих растений по сравнению с *K.pinnata* и *K.daigremontiana.* Для расширения возможности использования указанных видов Каланхое, как источников биологически активных соединений, необходимо проведение дополнительных исследований этих растений на предмет изучения их биохимического состава, а также антибактериальных, противомикробных и других свойств компонентов этих растений. Возможно, они окажутся более перспективными для использования их в фармации и медицине.

SEARCH OF POTENTIAL SOURCES OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS IN SPECIES OF THE GENUS KALANCHOE (*KALANCHOE* L.)

Sazhina N.N.[1], **Lapshin P.V.**[2], **Zagoskina N.V.**[2]
[1]*Emanuel Institute of biochemical physics, RAS,*
119334, Moscow, Kosygin str. 4;
[2]*Timiryazev Institute of plant physiology, RAS,*
127276, Moscow, Botanicheskaya str. 35

One from actual problems of a modern pharmaceutical science is creation of new medicines on the basis of vegetative raw materials. In fatherland medicine widely apply preparations from components of some succulent plants, in particular species of the genus Kalanchoe (Kalanchoe Adans.), mainly (K. pinnata) and (K.daigremontiana).Their biochemical structure and curative properties are well studied. However results of purposeful scientific researches of antioxidant properties (AOP) of their and other Kalanchoe types practically aren't present. Modern research methods allow to study them at higher level and to comprehend medicinal value of this or that plant. In the present work the comparative analysis of measurement results of the total phenol type antioxidant content and antioxidant activity (AOA) of different Kalanchoe types juice is carried out by three methods: ammetric, voltammetric and chemiluminescence for the purpose of identification among them the most active producers of biologically active substances. Objects of research were juice of the 34-th species of the genus Kalanchoe, grown up in a succulent collection in Timiryazev Institute of plant physiology of Russian Academy of Sciences in Moscow. Among the studied samples two most active species of the genus Kalanchoe: K.scapigera and K.rhombopilos are revealed by high values of AOA and the total phenol type antioxidant content. All three methods show much higher values of juice AOA of these plants in comparison with K.pinnata and K.daigremontiana.

For expansion of possible use of the specified Kalanchoe types as sources of biologically active substances, carrying out additional researches of these plants about studying of their biochemical structure, and also antibacterial, antimicrobic and other properties of components of these plants is necessary. Probably, they will appear more perspective for their use in pharmacy and medicine.

ИЗУЧЕНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ АКТИНОМИЦЕТОВ – ПРОДУЦЕНТОВ АНТИБИОТИКОВ ПРИ ХРАНЕНИИ В УСЛОВИЯХ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР

Синева О.Н.[1], **Галатенко О.А.**[1], **Филиппова С.Н.**[2] **Терехова Л.П.**[1]
[1]*ФГБУ «Научно-исследовательский институт*
по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН,
119021, г. Москва, ул. Б.Пироговская, д. 11.
[2]*Учреждение Российской академии наук Институт микробиологии*
им. С.Н.Виноградского РАН,
117312, г. Москва, Проспект 60-летия Октября, д. 7, корп. 2.

При хранении актиномицетов – продуцентов антибиотиков в условиях низких температур, важное значение приобретает использование криопротекторов – веществ, способных предотвращать развитие повреждений биологических мембран при замораживании и последующем оттаивании. Фосфолипиды являются важным компонентом клеточной мембраны. Ранее методом дифракции нейтронов было показано, что фосфолипиды *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433 образуют мультиламеллярные слои достаточно плотной упаковки. Фосфолипидная фракция этого актиномицета была стабильна при хранении в течение 10 месяцев при 4°С. Напротив, фосфолипидные фракции выделенного нами штамма 34-06 - продуцента антибиотических веществ,

отнесенного к роду *Nonomuraea*, формировали ламеллярную и инвертированную гексагональную структуры, при этом их фазовое состояние изменялось в процессе хранения. Приведенные результаты дали основание предполагать, что штамм 34-06 будет менее устойчив к хранению при низких температурах. В настоящем исследовании изучали выживаемость данных штаммов актиномицетов при длительном хранении в виде споровых суспензий в морозильной камере при температуре -70^{0}С. В качестве криопротекора использовали 10% раствор глицерина. Высев культур производили на органическую среду Гаузе 2 через следующие промежутки времени: 1, 2, 3, 4, 5, 6 и 12 месяцев и подсчитывали количество выросших колоний. В течение данного периода времени не было отмечено уменьшения количества КОЕ у обоих штаммов.

Полученные результаты можно объяснить тем, что 10% раствор глицерина является хорошим криопротектором для данных актиномицетов при длительном хранении при -70^{0}С.

STUDY OF THE SURVIVAL RATE OF ACTINOMYCETES, ANTIBIOTIC PRODUCERS, DURING STORAGE AT LOW TEMPERATURES

Sineva O.N.[1], **Galatenko O.A.**[1], **Filippova S.N.**[2], **Terekhova L.P.**[1]
[1]*Gause Institute of New Antibiotics Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 119021, str Bolshaya Pirogovskaya 11.*
[2]*Winogradsky Institute of Microbiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, 117312, str 60th Anniversary of October 7, Bldg 2.*

During long-term storage of actinomycetes, antibiotic producers, at low temperatures the importance the use of cryoprotectors grows considerably. Cryoprotectors are substances able to prevent biological membrane damage during freeze-thaw procedures.

Phospholipids are impotant components of cell membrane. The neutron diffraction method has previously shown that phospholipids of *Streptomyces hygroscopicus* RIA 1433 form multilamellar layers of dense pack, which were stable for 10 months storage at 4°C. In contrast, phospholipid fraction of the strain 34-06, that was producer of antibiotic substances, derived in our laboratory and attributed to *Nonomuraea* genus, formed lamellar and inverted hexagonal structures and phase condition has changed during storage. The above mentioned results gave the basis to assume that strain 34-06 will be less stable during storage at low temperatures. In the present research the survival rate of these actinomycete strains was studied during long-term storage as spore suspension in the freezer at -70^{0}C. 10% glycerol solution was used as cryoprotector. Cultures were plated on Gause 2 organic medium at time interval of 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 12 months and grown colonies were counted. During this time interval there were no reported CFU reduction in both strains.

This finding can be explained by the fact that 10% glycerol solution is a good cryoprotector for these actinomycetes during long-term storage at -70^{0}C.

ГИБРИДНЫЕ БЕЛКИ, ОБЛАДАЮЩИЕ СПЕЦИФИЧНОСТЬЮ К МОЛЕКУЛАМ КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ, ГИПЕРЭКСПРЕССИРУЮЩИМСЯ ПРИ РАКЕ, ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОТИВОРАКОВЫХ АГЕНТОВ И ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ

Сыркина М.С.[1], **Рубцов М.А.**[2], **Широков Д.А.**[1], **Вейко В.П.**[1]
[1]*Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН*
[2]*МГУ им. М.В. Ломоносова*

Одной из немаловажных характеристик метастазирования является способность опухолевых клеток к прикреплению, миграции и инвазии через тканевой барьер. Инвазия затрагивает

механизмы клеточной адгезии, в которых принимают участие молекулы интегринов. Адгезия клетки к различным компонентам внеклеточного матрикса приводит к активации внутриклеточных сигнальных путей. К настоящему времени установлено, что гипреэкспрессирующиеся в клетках метастатического рака интегрины принимают участие в блокировании апоптоза и стимуляции прогрессии клеточного цикла, участвуют в процессах адгезии, миграции и дифференцировки. В связи с этим, интегриновым рецепторам отводят одну из главных ролей в метастазировании. Целый ряд интегриновых рецепторов, гиперэкспрессирующихся при раке, способен к высокоаффинному связыванию мотива Arg-Gly-Asp (RGD) в белках внеклеточного матрикса. Таким образом, RGD-содержащие белки, могут быть использованы для селективного узнавания опухолевых клеток.

Нами был создан ряд экспрессионных векторов, несущих гены слитых белков, содержащих «адресующую» часть и «адаптор». «Адресующая» часть представлена RGD-несущим пептидом, стабилизированным дисульфидной связью в конформации, оптимальной для взаимодействия с рецептором. «Адаптор» представлен тетрамером стрептавидина и может быть использован для присоединения биотинилированного визуализирующего или токсического агента. На базе штамма *E.coli* MG1655 были получены штаммы-продуценты вышеупомянутых рекомбинантных белков. Слитые белки были очищены методом аффинной хроматографии на 2-иминобиотинагарозе. У выделенных белков была продемонстрирована способность к селективному узнаванию клеток меланомы человека и мыши.

Полученные рекомбинантные слитые белки могут быть использованы при создании агентов для диагностики и/или терапии онкологических заболеваний человека.

FUSION PROTEINS TARGETING TO CELL ADHESION MOLECULES, OVEREXPRESSED IN CANCER CELL, PROMISING IN CANCER DIAGNOSTIC AND THERAPY

M.S.Syrkina[1], M.A.Rubtsov[2], D.A.Shirokov[1], V.P.Veiko[1]
[1]*A.N.Bach Institute of Bochemistry RAS*
[2]*Lomonosov Moscow State University*

Metastasis is multiple-stage process, which is characterized by a number of rounds of metastasing cell attachment/detachment to extracellular matrix. Different cell adhesion molecules such as cadherins and integrins take part in this process. More over the proper cooperation of different molecular structures is required. Integrin receptors are able to take part in the regulation of such cooperation because of its ability to bidirectional signal transduction and the mediation of cell adhesion, migration, proliferation, differentiation and apoptosis. Observations showng that integrin overexpression correlates with the increase of the metastatic potential of cancer cells suggest the key role of integrins in cancer cell malignization.

It is known that integrins which are overexpressed in highly-metastatic cancers are capable to high affinity binding to RGD tripeptide, which has been found in a wide variety of its natural ligands. So RGD-bearing proteins represent the suitable tool for selective binding with melanoma cells.

In present work expression vectors bearing the genes of fusion proteins have been constructed for producing these proteins in *E. coli*. Such fusion proteins consist of a peptidic ‘address’, targeting the integrins on melanoma cells, linked to an ‘adaptor’ for the attachment of a visualizing agent. The peptidic ‘address’ contains the RGD motif, which is stabilized by a disulfide bond to achieve the optimal receptor binding conformation. The ‘adaptor’ is a tetrameric protein, namely, streptavidin, that is able to achieve high-affinity binding of d-biotin, which facilitates the generation of visualizing or toxic agents using the appropriate biotin derivatives. Aforementioned proteins were purified from the

periplasm of *E.coli* using columns with 2-iminobiotin agarose and demonstrated ability to selective adhesion to murine and human melanoma cells.

Obtained results suggest the possibility to generate new anticancer diagnostic and/or therapeutic agents using RGD-bearing recombinant proteins and the appropriate biotin derivatives.

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКИХ, АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ И ЛЕЧЕБНЫХ СВОЙСТВ АНТИБИОТИКА-ПЕПТОЛИДА А-70, ОБРАЗУЕМОГО *STREPTOMYCESSP.*ИМВ 70.

Треножникова Л.П.[1], **Федорова Г.Б.**[2], **Хасенова А.Х.**[1], **Балгимбаева А.С.**[1], **Катруха Г.С.**[2], **Бу Х. Ква**[3], **АзлиатиАзизан**[3]

[1]*РГП Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК, Алматы, Казахстан*

[2]*ФГБУ НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН, Москва, Россия*

[3]*Департамент Всемирного здравоохранения,*

Колледж Общественного Здравоохранения, Тампа, Южная Флорида, США

Штамм *Streptomycessp.*ИМВ 70 депонирован в ВКПМ ФГУП ГосНИИгенетика, коллекционный номер Ас-1792. Антибиотик А-70 выделен методом экстракции, при его исследовании использованы методы хроматографии, масс-спектрометрии, электрофореза и биоавтографии. Терапевтическое действие изучено *invivo на* экспериментальных модельных инфекциях, вызванных клиническими штаммами *MRSA*на белых мышах.

Антибиотик А-70 является комплексом 4 биологически активных компонентов: основных (А,В) иминорных (С,D). Установлено, что компонент А идентичен образцу этамицина А (группа антибиотиков-пептолидов), компоненты С и D не имеют аналогов в компьютерной базе данных BNPD и являются новыми представителями данной группы химических соединений.

Антибиотик А-70 высокоактивен против клинических кокковых возбудителей инфекций: стафилококков, стрептококков, микрококков, энтерококков и аэрококков с различными типами устойчивости к лекарственным препаратам. Отмечена высокая активность антибиотика А-70 в отношении клинических MRSA штаммов с устойчивостью против аминогликозидов, макролидов, линкозамидов, фторхинолонов, МПК составляет 0,5-0,025 мкг\мл.

Антибиотик А-70 оказывает выраженный лечебный эффект на модели экспериментальной стафилококковой инфекции, вызванной *Staphylococcus aureus* (MRSA), а также вызывает увеличение продолжительности жизни зараженных мышей. Токсичность, эмбриотоксичность, пирогенное и местное раздражающее действие антибиотика не выявлены, сенсибилизирующий эффектотсутствует. Изученные свойства антибиотика А-70 свидетельствуют о том, что он является потенциально важным лекарственным препаратом для медицины.

ANTIBIOTIC-PEPTOLIDE PRODUCED BY *STREPTOMYCES SP.* IMV 70, ITS CHEMISTRY, ANTIBACTERIAL AND CHEMOTHERAPEUTIC CHARACTERISTICS

Trenozhnikova L.P.[1], **Fedorova G.B.**[2], **Khasenova A.Kh.**[1], **Balgimbaeva A.S.**[1], **Katrukha G.S.**[2], **Boo H. Kwa**[3] **and Azliyati Azizan**[3]

[1]*Institute of Microbiology and Virology CS MES RK, Almaty, Kazakhstan*

[2]*Institute of New Antibiotics named after G.F.Gauze RAMS, Moscow, Russia*

[3]*Global Health Department, College of Public Health, Tampa, South Florida, USA*

The strain *Streptomyces sp.* IMV 70 was deposited in the collection of Scientific Center of Russian Federation Research Institute for Genetics and Selection of Industrial Microorganisms, collection number – As-1792. The antibiotic A-70 was isolated by extraction method and studied by using chro-

matography, mass spectrometry, electrophoresis and bioautography methods. Its therapeutic properties mere studied *in vivo* on the experimental model infections, caused by MRSA strains in white mice.

The antibiotic A-70 is a compound of 4 biologically active components: the main components (A, B) and minor components (C, D). The component A is identical to the of peptolideetamycin A (the group of antibiotics-peptolides), while the components C and D have no analogues in the computer database BNPD and therefore are the new representatives in this group of chemical compounds.

The antibiotic A-70 is active against clinical Cocci strains: *Staphylococci*, *Streptococci*, *Micrococci*, *Enterococci*, and *Aerococci* with different types of drug-resistance. The antibiotic A-70 shows high activity against the clinical MRS-strains with resistance to aminoglycosides, macrolides, lyncosamides, and ftorchinolons. Its MIC equals 0.5 - 0.025 mcg/ml.

The antibiotic A-70 showed distinctive medicinal effect when studied on the model of experimental *Staphylococci* infection, caused by *Staphylococcus aureus* (MRSA), and increased the lifespan of the infected mice. Toxic, embryotoxic, pyrogenic effect, local irritating action and sensitizing reaction of the antibiotic A-70 were not discovered. The studied properties of the antibiotic A-70 attest to its potential for being used in medicine.

НИЗКИЕ И СВЕРХНИЗКИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ АНТИОКСИДАНТОВ ОБЛАДАЮТ СВОЙСТВАМИ АДАПТОГЕНОВ К СТРЕССОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Жигачева И.В., Бурлакова Е.Б., Голощапов А.Н.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля
Российской академии наук,
119334, г. Москва, ул. Косыгина,4, e-mail: zhigacheva@mail.ru

Смещение антиоксидантно – прооксидантного равновесия в сторону увеличения генерации активных форм кислорода (АФК) митохондриями происходит под действием стрессовых факторов, что может привести к развитию оксидативного стресса. В связи с этим весьма актуальным является поиск препаратов, снижающих пул АФК в клетке. На эту роль в первую очередь претендуют антиоксиданты. Поскольку известно, что пространственно затрудненные фенолы проявляют антиоксидантные свойства, объектами исследований стали фенозан калия (калиевая соль 2,6- ди-трет-бутил-4-гидроксифенил-пропионовой кислоты) и анфен (1-N-(ацетиламидо)-1-(3,5-ди-трет-бутил-4-гидроксифенил)-метил-малонат натрия). Стрессовые воздействия (острая гипобарическая гипоксия, низкотемпературный стресс, острое алкогольное отравление) приводили к активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) и дисфункции митохондрий печени крыс. Исследуемые препараты в концентрациях 10^{-12} - 10^{-18} М снижали интенсивность ПОЛ до контрольных значений и восстанавливали биоэнергетические показатели митохондрий печени крыс. Более того, введение таких низких концентраций препаратов мышам в 3,5-4,5 раз увеличивала продолжительность жизни и на 20-30% повышала их выживаемость в условиях различных видов гипоксии, низкотемпературного стресса и острого алкогольного отравления. Предполагается, что протекторное действие низких концентраций антиоксидантов, возможно, обусловлено предотвращением окисления ненасыщенных жирных кислот, главным образом линолевой кислоты, входящих в состав липидной фракции мембран митохондрий.

ANTIOXIDANTS AT LOW AND SUPERLOW CONCENTRATIONS HAVE THE PROPERTIES OF ADAPTOGENS TO STRESSES

I.V. Zhigacheva, E.B. Burlakova, A.N. Goloshchapov
Federal Science Institution: Emanuel Institute of Biochemical Physics,
Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
Tel.: 8-495-939-74-09, e-mail: zhigacheva@mail.ru

A disturbance of the antioxidant-prooxidant balance towards an increase in the generation of active oxygen species (ROS) by mitochondria is a result of action of stress factors, which may lead to development of the oxidative stress. Therefore, a search for preparations that decrease a pool of ROS in the cell is a question of great importance. Above all, the pretenders to this role are antioxidants. As it is well-known that spatially hindered phenols exhibit antioxidant properties, the test subjects were: potassium phenozan (potassium salt of 2,6-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl-propionic acid) and anphen (1-N-(acetylamido)-1-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)-methyl-sodium malonate). Stress effects (acute acute hypobaric hypoxia, low-temperature, acute alcoholic intoxication) resulted in activation of lipid peroxidation (LPO) and dysfunction of rat liver mitochondria. The preparations under study in concentrations of 10^{-12} to 10^{-18} M decreased the LPO intensity to the control values and restored the bioenergentic propertes of the rat liver mitochondria. Furthermore, injection of the preparations at such low concentrations to mice increased 3.5 to 4.5 the mice age of life and increased the survival of the mice by 20 to 30% under conditions of different types of hypoxia, low-temperature stress, and acute alcoholic intoxication. Supposedly, the protective effect of low concentration of antioxidants may be accounted for by prevention of oxidation of unsaturated fatty acids, first of all, linoleic acid in the lipid fraction of mitochondrial membranes.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ЛАК ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОТ БИОКОРРОЗИИ

Акопян В.Б., Афонин А.В., Бамбура М.В., Ступин А.Ю., Филатова В.А.
ОАО «ГосНИИсинтезбелок»,
109004, Москва, ул. Александра Солженицына, 27
E-mail: akopyan1941@mail.ru

Экспериментально показано для ряда бактерий и грибов, что содержащие янтарь лаки предотвращают развитие микроорганизмов и могут применяться для защиты поверхностей от биокоррозии, обусловленной развитием на них бактериальных пленок и плесеней. Особенно актуально использование янтарных лаков специально подобранных составов, для защиты различных поверхностей в бытовых и промышленных помещениях, в биофильтрах, на стенах герметичных помещений, в том числе, космических станций. Однако, в настоящее время из-за сложности и длительности технологических процессов, а также значительных потерь исходного сырья, янтарный лак в России в промышленных масштабах не производится. Использование низкочастотного (22 – 44 кГц) ультразвука с плотностью мощности 1 – 10 Вт/см^3 приводит к сокращению времени производства готового продукта, к быстрой гомогенизации готового лака, к более полному растворению янтаря, а, следовательно, к упрощению его производства и повышению защитных свойств готового продукта.

VARNISH FOR PROTECTION AGAINST BIOLOGICAL CORROSION

Akopyan V.B., Afonin A.V., Bambura M.V., Stupin A.Yu., Filatova V.A.
Joint Stock Company "Scientific Research Institute of Proteins Biosynthesis",
109004, Moscow, 27, Aleksandr Soljenitcin str. E-mail: akopyan1941@mail.ru

Experimentally was shown for a number of bacteria and fungi that amber varnishes prevents the growth of microorganisms and can be used for surface protection from biological corrosion in case of the development of bacterial films and molds. Especially actually is using of amber varnishes with specially selected compositions for protection of various surfaces in residential and industrial areas, in biofilters, in the walls of hermetic premises including space stations. However, today because of the complexity and duration of the process, as well as significant loss of raw materials, amber varnish in Russia on an industrial scale is performed. Using of low-frequency (22 - 44 kHz) ultrasound with a power density of 1 - 10 W/cm3 permits to shorten the time production, to accelerate homogenization of varnish, to increase dissolution of amber and consequently, to simplify the production and to raise the protective properties of finished product.

КАРАНДАШ ДЛЯ НАНЕСЕНИЯ ЗАЩИТНОГО ПОКРЫТИЯ

Акопян В.Б., Бамбура М.В., Филатова В.А.
ОАО «ГосНИИсинтезбелок»,
109004, Москва, ул. Александра Солженицына, 27
E-mail: Mariya-bambura@yandex.ru,

Содержащие янтарь, препятствующие развитию микроорганизмов лаки в ряде случаев, например, в жилых герметичных, непроветриваемых помещениях космических станций, малопригодны для использования, в виду наличия в них летучих растворителей. Однако именно в этих условиях чаще всего создаются условия для бурного развития поверхностных бактериальных пленок и плесеней, нарушающих экологию, изменяющих свойства поверхностей, и обуславливающих биокоррозию. Для предотвращения роста и развития микроорганизмов на поверхностях стен, приборов, кабелей значительно удобнее использовать восковые карандаши, в состав которых включены янтарь, прополис, смола сосны и другие природные вещества, безвредные для человека, но защищающие поверхности, как от химической, так и от биокоррозии. Кроме антимикробных веществ в состав карандашей необходимо вводить пластифицирующие добавки для придания карандашам необходимых физических свойств (сопротивления нажиму, однородности, хорошей намазываемости, высвобождения активных веществ, оптимального контакта (мягкий мазок, оставляющего ровный, сплошной слой на поверхности).

Экспериментальная проверка защитных свойств восковых карандашей, содержащих 30% мелкодисперсной фракции янтаря, льняное масло, 40% прополиса выявила выраженный фунгицидный эффект по отношению к ряду грибов и ярко выраженный бактерицидный эффект по отношению к *Bacillus Subtilis*.

Новые препараты, отличающиеся по форме и содержанию натуральных веществ с антимикробными свойствами создают необходимое разнообразие, обеспечивающее оптимальный выбор средств для решения конкретных задач по защите поверхностей от микрофлоры.

CRAYONS FOR APPLYING A PROTECTIVE COVERS

Akopyan V.B., Bambura M.V., Filatova V.A.
Joint Stock Company "Scientific Research Institute of Proteins Biosynthesis",
109004, Moscow, 27, Aleksandr Soljenitcin str. E-mail: Mariya-bambura@yandex.ru,

Amber varnishes impeding the development of microbial layers, in some cases, for example in residential hermetical unventilated areas of space stations are not sufficiently easy to use because they contain volatile solvents. In these cases it is more convenient to use wax crayons, with composition of amber, propolis, pine resin and other natural substances that are harmless to humans, but protects the surface from the chemical and biological corrosion.

Experimental check of the protective properties of wax crayons containing 30% the fine fraction of amber, linseed oil, 40% propolis revealed pronounced fungicidal effect against a number of fungi and a pronounced bactericidal effect against *Bacillus subtilis*.

ВЛИЯНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ

Бурлакова Е.Б., Козаченко А.И., Наглер Л.Г., Мишарина Т.А., Алинкина Е.С., Фаткуллина Л.Д.
ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН.
119334, Москва, ул. Косыгина, 4, E-mail: tmish@rambler.ru

Интенсивность ПОЛ в организме регулируется с помощью системы антиоксидантных ферментов. Для нормальной работы такой сложной и многоплановой системы, как антиоксидантная, необходим широкий набор биоантиоксидантов, это обеспечивает координированное и саморегулируемое функционирование системы в целом и поддерживает антиоксидантный гомеостаз организма. В данной работе мы измерили активность антиоксидантных ферментов в гомогенате печени мышей при приеме в течение 6 месяцев малых доз (300нг/сутки) эфирных масел гвоздики, орегано и смеси лимона и имбиря. Изученные ферменты – супероксиддисмутаза (СОД), глутатион пероксидаза (ГП) и глутатион трансфераза (ГТ), участвуют в детоксикации пероксидных радикалов и различных ксенобиотиков.

Найдено, что прием мышами всех масел увеличивал активность СОД в 1,3-1,5 раза. Этот фермент первой линии антирадикальной защиты играет важную роль в повышении антиоксидантного статуса организма. Прием смеси масла лимона и имбиря увеличивал активность ГП только на 7%, гвоздики – на 28%, а орегано даже снизило ее активность на 10%. Самое сильное влияние эфирные масла оказали на глутатионтрансферазу, активность которой увеличилась в 1,6 - 2 раза. Ранее было показано, что способность некоторых природных соединений, в том числе эфирных масел, индуцировать активность ГТ коррелировала с их противораковым действием. ГТ является важнейшим компонентом системы антиоксидантной защиты и детоксикации, включая эндогенные метаболиты, образующиеся при окислительном стрессе.

Важной особенностью действия биоантиоксидантов являются сложные, многостадийные механизмы действия, которые обеспечивают высокую эффективность и сбалансированность функционирования антиоксидантной системы клетки. Полученные данные показали, что принимаемые в малых дозах эфирные масла проявили себя *in vivo* как эффективные биоантиоксиданты, они увеличивали активность эндогенных антиоксидантных ферментов, что в итоге приводило к снижению интенсивности процессов ПОЛ, к повышению устойчивости к повреждающим окислительным процессам в клетках и в организме в целом.

EFFECT OF ESSENTIAL OILS ON ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN MICE LIVER

Burlakova E.B., Kozachenko A.I., Nagler L.G., Misharina T.A., Alinkina E.S., Fatkullina L.D.
Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow;
4, Kosygin Street, Moscow, 119334, Russia. E-mail: tmish@rambler.ru

Concentration of Reactive Oxygen Species (ROS) in organisms is regulated by complex of andioxidant enzymes. For the efficient, organic and self-regulated functioning of this system the broad set of antioxidants is required. We speculate that administration of antioxidants could regulate own antioxidant system of organism. The goal of this study was evaluation of antioxidant enzymes activity in the liver of mice consuming antioxidants contained in essential oils. Mice were feed with low doses (300 ng/day) of oils from oregano, clove bud, and mixture prepared from lemon oil and ginger extract for six months, thereafter the activity of superoxide dismutase (SOD), glutatione peroxidase (GP), and glutatione transferase (GT) in liver homogenates was measured. Essential oils manifested the strongest effects on the GT activity (stimulation in 1,6 – 2 fold by all essential oils). Activity of SOD was increased by all essential oils in 1,3-1,5 folds; activity of GP was dependent on the source of essential oil: the mixture prepared from lemon oil and ginger increased it about 7%; oil from clove bud increased it on 28%; oregano oil decreased it about 10%. The results obtained reveal that administration of low doses of essential oils regulates activity of key antioxidant enzymes in mice liver, thereby decreasing ROS concentrations, and increasing resistance to oxidative damage processes in cells and in whole organism. Apparently, administration of low doses of antioxidants could influence complex multistage oxidative processes, and regulate functioning of cell antioxidant system.

АНТГЕЛЬМИНТНЫЕ СУБСТАНЦИИ: ПРОБЛЕМЫ, ТЕНДЕНЦИИ, ПЕРСПЕКТИВЫ

Джафаров М.Х.[1], Заварзин И.В.[2]
[1]*Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологий им. К.И.Скрябина, г. Москва; mxd123@mail.ru*
[2]*Институт органической химии РАН имени Н.Д.Зелинского, г. Москва*

Гельминтозы представляют серьезную угрозу здоровью человека, животных и растений и приводят к колоссальным экономическим издержкам: потеря трудоспособности человека, снижение продуктивности с/х животных и зверей, представляющих промышленный интерес (снижение мясной, молочной продуктивности и яйценоскости, падежа, ухудшения качества шкур, шерсти и т. д.), урожайности культивируемых растений, качества лесоматериалов и другим последствиям [1].

В практической медицине и ветеринарии нашли широкое применение антгельминтные субстанции различной химической природы. Это связано с многообразием возбудителей, вызывающих гельминтозы.

Однако широкомасштабное применение антгельминтиков приводит к развитию резистентности со стороны возбудителей – глобальной проблеме в контроле паразитозов.

Для успешной борьбы с резистентностью наряду с альтернативными методами лечения (биологические методы с применением микроорганизмов, грибов, растений, обладающих антигельминтными свойствами, создания вакцин, в частности, на основе отдельных структурных элементов гельминтов и др.) проводятся работы по модификации существующих субстанций и созданию антгельминтных субстанций широкого спектра действия с новым механизмом действия с привлечением современных технологий скрининга антгельментной активности различных классов синтетических и природных соединений. Одной из тенденций является также

применение многокомпонентных антгельминтных средств на основе различных классов субстанций.

В этом направлении нами проведена работа по синтезу и технологии получения новых производных авермектинов B_1 и N- и S-содержащих стероидных соединений. В результате скрининга антигельминтной активности полученных соединений на олигохетах *Tubifex tubifex*, и далее в производственно-полевых условиях, некоторые из них отобраны для разработки нового противопаразитарного средства.

1. Краснопольская И. Схватка с паразитами. «Детская болезнь» бьет по кошельку государства». Интервью главного государственного санитарного врача РФ, руководителя Роспотребнадзора, академика РАМН Г.Г. Онищенко // «Российская газета»(Федеральный выпуск) № 3359 от 03.12.2003.

ANTHELMINTIC SUBSTANCES: PROBLEMS, TENDENCIES, AND PROSPECTS

Dzhafarov M. Kh.[1], Zavarzin I.V.[2]

[1]*K .I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnologies, Moscow; mxd123@mail.ru;*

[2]*N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow*

Helminthiases are of serious danger for the health of people, animals, and plants and result in huge ecomonical expenses: the loss of the human ability for work and a decrease in the productivity of agricultural and industrially interesting wild animals (decreasing meat-and-milk productivity and egg-laying qualities, murrain, worsening of the fell and wool quality, etc.), the crop capacity of cultured vegetables, quality of lumber, and other sequences [1].

Anthelmintic substances of various chemical nature found wide use in practical medicine and veterinary. This is related to a variety of pathogens causing helmintoses.

However, a wide-scale use of anthelmintic drugs results in the development of resistance of pathogens. This is a global problem in parasitosis control.

For the successful struggle against resistance, alternative treatment methods are used: biological methods using microorganisms, fungi, and plants with antihelmintic properties, the production of vaccines, in particular, based on particular structural units of helmintics, and others. Along with these alternative methods, the existing substances are modified and anthelmintic substances of a wide range of action with the new mechanism are synthesized using modern technologies of anthelmintic activity screening of diverse classes of synthetic and natural compounds. One of the tendencies is also the application of multicomponent anthelmintic remedies based on various classes of substances.

We carried out the work in this direction on the synthesis and technology of production of new derivatives of avermectin B_1 and N- and S-containing steroid compounds. Some of them were selected for the development of a new antiparasitic drug as a result of the antihelmintic activity screening of the synthesized compounds on oligochaetes *Tubifex tubifex* and then under industrial field conditions.

1. Krasnopol'skaya I. "A Skirmish with Parasites. "Childhood disease» Hits the County in Its Pocket." Interview of the Chief State Sanitary Inspector of the Russian Federation, the Head of the Russian Consumer Supervision, Academician of the Russian Academy of Medical Sciences G.G.Onishchenko // "Rossiiskaya gazeta" (Federal issue) no. 3359 of 03.12.2003.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ АСКОМИЦЕТНОГО ГРИБА *XYLARIA ACUTA*

Тихонова О.В.[1], **Васильева Б.Ф.**[1], **Ефременкова О.В.**[1], **Зенкова В.А.**[1], **Катруха Г.С.**[1], **Резникова М.И.**[1], **Королев А.М.**[1], **Дьяков М.Ю.**[2], **Биланенко Е.Н.**[2], **Камзолкина О.В.**[2]

[1]*Институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН;*
119021, Москва Б. Пироговская, 11; ovefr@narod.ru
[2]*Московский Государственный Университет им. М.В. Ломоносов,*
Биологический факультет;
119991, Москва, Ленинские горы, МГУ, д., 1 корп. 12; o-kamzolkina@yandex.ru

В настоящее время при изыскании новых биологически активных веществ природного происхождения особое внимание уделяют редким или малоизученным видам, рассматривая их в качестве потенциально наиболее перспективных продуцентов новых соединений. В ходе проведения исследований по изысканию новых антибиотиков у штаммов грибов, выделенных из природных местообитаний, особое внимание уделяется природным соединениям, преодолевающим лекарственную устойчивость патогенных бактерий. В качестве тест-объектов для определения антибиотической активности использовали 18 штаммов грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также 2 штамма грибов.

При первичном скрининге для последующего химического изучения был выбран штамм, который при глубинном культивировании проявляет антимикробную активность на стабильно высоком уровне. При глубинном культивировании гриб отличается высокой скоростью роста на различных средах. Этот штамм был выделен при сборе коллекции макромицетов в субтропической зоне России (в Краснодарском крае) из плодового тела базидиального гриба *Ganoderma lucidum*. На основании морфологических свойств и анализа последовательности гена рибосомальной РНК указанный гриб отнесен к виду *Xylaria acuta.* Исследуемый штамм образует четыре антибактериальных вещества, эффективных в отношении устойчивого к метициллину штамма *Staphylococcus aureus* ИНА 00761 (MRSA), а также в отношении устойчивого к гликопептидам штамма *Leuconostoc mesenteroides* VKPM B-4177, которые по предварительным данным являются ранее неописанными соединениями.

ANALYSIS OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ASCOMYCETE FUNGUS *XYLARIA ACUTA*

Tikhonova O.V.[1], **Vasiljeva B.F.**[1], **Efremenkova O.V.**[1], **Zenkova V.A.**[1], **Katrukha G.S.**[1], **Reznikova M.I.**[1], **Korolev A.M.**[1], **Dyakov M.Yu**[2]., **E.N. Bilanenko E.N.**[2], **O.V. Kamzolkina O.V.**[2]

[1]*Gause Institute of New Antibiotics Russian Academy of Medical Sciences;*
119021 Moscow, Bolshaya Pirogovskaya str., 11; ovefr@narod.ru
[2]*Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology;*
119991 Moscow, 1-12 Leninskie Gory; o-kamzolkina@yandex.ru

At present, the search for new biologically active substances of natural origin are paying special attention to rare or little known species, viewing them as potentially the most promising producers of new compounds. In the course of the research to find new antibiotics in strains of fungi isolated from natural habitats, focusing on natural compounds, overcomes drug resistance in pathogenic bacteria. As test objects to determine the antibiotic activity used 18 strains of Gram-positive and Gram-negative bacteria, as well as 2 strains of fungi.

In the primary screening for subsequent chemical study was selected strain which, when submerged cultivation shows antimicrobial activity at a consistently high level. When submerged culti-

vation the fungus has a high rate of growth in different cultural media. This strain was isolated in the collection of higher fungi in the subtropical zone of Russia (Krasnodar region) on the fruit body of basidiomycete *Ganoderma lucidum*. Based on morphological characteristics and sequence analysis of ribosomal RNA gene indicated the fungus referred to the species *Xylaria acuta*. The investigated strain forms four antimicrobial agents effective against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* INA 00761 (MRSA), as well as against resistant strains of glycopeptide *Leuconostoc mesenteroides* VKPM B-4177, which according to preliminary data are previously undescribed compounds.

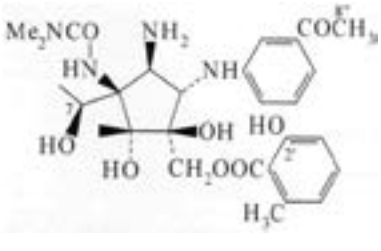
ОПИСАНИЕ АНТИБИОТИКА АКТИНОМИЦЕТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ, ЭФФЕКТИВНОГО В ОТНОШЕНИИ МЕТИЦИЛИН-РЕЗИСТЕНТНЫХ СТАФИЛОКОККОВ

Лысенкова Л.Н.[1], **Катруха Г.С.**[1], **Шашков А.С.**[2], **Королев А.М.**[1], **Галатенко О.А.**[1], **Терехова Л.П.**[1], **Сумарукова И.Г.**[1], **Козлов Д.Г.**[1], **Макарова М.О.**[1], **Гладких Е.Г.**[1] **Ефременкова О.В.**[1]

[1]*Институт по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе РАМН; 119021, Москва, Б. Пироговская, 11. e-mail: ovefr@narod.ru.*

[2]*Институт органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН; 119991, Москва, Ленинский проспект, 47; e-mail: shash@ioc.ac.ru*

Распространение патогенных бактерий, устойчивых к антибиотикам медицинского назначения, требует изыскания новых лекарственных средств и новых схем лечения инфекций. В ходе поиска новых антибиотиков, эффективных в отношении метициллин-резистентных стафилококков (MRSA), из природной среды был выделен штамм *Streptomyces* sp. 4031, образующий несколько антибиотиков различного химического строения. Одно из соединений, антибиотик ИНА-17, было выделено из культуральной жидкости эстракцией органическими растворителями. Антибиотик очищали, используя хроматографию на силикагеле, силанизированном силикагеле, сефадексе LH-20. Антибиотик ИНА-17 хорошо растворяется в хлороформе, этилацетате, метаноле, имеет свойства основания и образует соли с кислотами. На основании данных масс-спектров, УФ- и ЯМР-спектроскопии доказана его идентичность с ранее описанным антибиотиком пактамицином, молекулярная формула $C_{28}H_{38}N_4O_8$, мол. масса 558,27. Пактамицин проявляет широкий спектр антибактериального действия, подавляя рост как грамотрицательных, так и грамположительных бактерий, включая MRSA.



Этот антибиотик можно отнести к «старым новым антибиотикам», которые становятся востребованными на новом этапе поиска антибиотиков медицинского назначения. В отличие от ранее описанного продуцента пактамицина *Streptomyces pactum*, штамм 4031 относится к другому виду рода *Streptomyces*. Разработаны условия культивирования, при которых максимальное содержание антибиотика в культуральной среде достигается на 2-3 сутки роста.

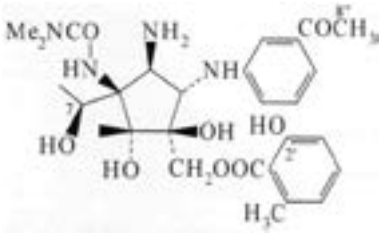
DESCRIPTION OF THE ACTINOMYCETE PRODUCED ANTIBIOTIC, EFFECTIVE AGAINST METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Lysenkova L.N.[1], Katrukha G.S.[1], Shashkov A.S.[2], Korolev A.M.[1], Galatenko O.A.[1], Terekhova L.P.[1], Sumarukova I.G.[1], Koslov D.G.[1], Makarova M.O.[1], Gladkikh E.G.[1], Efremenkova O.V.[1]

[1]*Gause Institute of New Antibiotics Russian Academy of Medical Sciences; 119021 Moscow, Bolshaya Pirogovskaya str., 11; e-mail: ovefr@narod.ru*

[2]*N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry Russian Academy of Sciences; 119991 Moscow, Leninsky Prospekt, 47; e-mail: shash@ioc.ac.ru*

The spread of pathogenic bacteria resistant to antibiotics of medical purposes, requires the search for new medicines and new treatments of infections. In the search for new antibiotics effective against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* INA 00761 (MRSA), from the natural environment was isolated strain of *Streptomyces* sp. 4031, forming several antibiotics of different chemical structure. One of these compounds, the antibiotic INA-17, was isolated from the culture fluid by organic solvents extraction. The antibiotic was purified using chromatography on silica gel, silanosilica gel, Sephadex LH-20. Antibiotic INA-17 is highly soluble in chloroform, ethyl acetate, methanol and has the properties of the base and so forms salts with acids. On the basis of mass spectra, UV and NMR-spectroscopy proved its identity with the previously described antibiotic pactamycin, molecular formula $S_{28}N_{38}N_4O_8$, Mol. mass of 558.27. Pactamycin exhibits a wide spectrum of antibacterial action, inhibiting the growth of Gram-negative as well as Gram-positive bacteria, including MRSA.



This antibiotic can be attributed to the “old new antibiotics,” which became popular in the new stage of looking for antibiotics for medical purposes. In contrast to previously described pactamycin producer *Streptomyces pactum*, strain 4031 belongs to another species of the genus *Streptomyces*. The conditions of cultivation were created, at which the maximum content of antibiotic in the culture medium is achieved at 2-3 days of growth.

ВЛИЯНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ МЫШЕЙ

Фаткуллина Л.Д., Мишарина Т.А., Алинкина Е.С., Медведева И.Б., Бурлакова Е.Б.

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН. 119334, Москва, ул. Косыгина, 4, E-mail: fatkullina@sky.chph.ras.ru

Избыточные окислительные процессы в живом организме оказывают существенное влияние на некоторые биохимические и физико-химические характеристики клеток крови, таких как эритроциты. Интенсификация ПОЛ может быть одной из причин снижения прочности мембран, что отражается в увеличении степени гемолиза эритроцитов. Мы провели изучение влияния систематического приема малых доз эфирных масел орегано, гвоздики и смеси лимона и имбиря на характеристики эритроцитов у мышей. Найдено, что степень гемолиза эритроцитов в опытных группах была достоверно ниже по сравнению с контролем. Прием

эфирного масла гвоздики снижал величину этого параметра на 34%, масла орегано – на 14% и лимона – на 11%, то есть все эфирные масла при их употреблении в течение 6 месяцев увеличивали резистентность мембран эритроцитов. Эти эфирные масла проявляли свойства биоантиоксидантов, они снижали интенсивность ПОЛ в мембранах, об этом свидетельствуют результаты определения содержания этих продуктов. Эти величины в опытных группах мышей были меньше, чем в контрольной группе, активность снижалась в ряду эфирное масло гвоздики, орегано и смесь лимона с имбирем. Известно, что интенсивность ПОЛ влияет на микровязкость липидов мембран, что приводит к нарушению их функциональной активности. Найдено, что прием ЭМ лимона с имбирем практически не влиял на микровязкость липидов мембран эритроцитов, измеренную методом ЭПР спиновых зондов. При этом эфирные масла гвоздики и орегано уменьшали микровязкость липидов на 20-30% по сравнению с контролем.

Таким образом, проведенные исследования показали, что прием эфирных масел с высокой антиоксидантной активностью приводил к снижению интенсивности ПОЛ в эритроцитах, увеличению их резистентности, снижению микровязкости и сохранению структурной целостности и функциональной активности.

EFFECT OF INTAKE OF ESSENTIAL OILS ON CHARACTERISTICS OF MICE ERYTHROCYTE

Fatkullina L.D., Misharina T.A., Alinkina E.S., Medvedeva I.B., Burlakova E.B.
Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow;
4, Kosygin Street, Moscow, 119334, Russia. E-mail: tmish@rambler.ru

Intensive oxidative processes are known to influence physico-chemical and biological properties of cellular membranes, particularly membranes of blood cells such as erythrocytes. These oxidative processes decrease the membrane solidity, and promote erythrocyte haemolysis. Taking into account the antioxidant properties of essential oils, we suggested that they may affect structural and functional characteristics of erythrocyte membranes. In the present study mice were received for six months low doses of essential oils of oregano, clove bud, and mixture prepared from lemon oil and ginger extract, thereafter erythrocyte membranes were investigated. We have found significant differences in properties of erythrocyte membranes from mice received essential oils and control mice. Haemolysis of erythrocytes from mice received essential oils was significantly lower in comparison with that from control mice. Clove oil decreased haemolysis on 34%; oregano oil – on 14%; lemon oil – on 11%. The essential oils displayed antioxidant properties characterized by TBA-AP test; antioxidant activity being reduced in a following row: clove oil > oregano oil > oil from lemon and ginger extract. Lipid phase of membranes (isolated either from erythrocytes of mice received essential oils or from erythrocytes of control mice) was studied by EPR using lipid spin probes: 5- and 16-doxyl stearic acids. It was found that essential oils from clove and oregano decrease viscosity of membrane (20 – 30% to control), whereas oil from lemon and ginger extracts had no effects.Therefore, the data obtained in this study indicate that administration of essential oils to mice significantly inhibits oxidative processes in erythrocyte membrane, decreases its viscosity, and apparently promotes their structural integrity and functional activity.

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТНЫЕ БИОТЕСТ-СИСТЕМЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО СКРИНИНГА

Ферубко Е.В., Лупанова И.А., Леонидова Ю.А., Стрелкова Л.Б., Колхир В.К.
Всероссийский научно-исследовательский институт лекарственных и ароматических растений (ВИЛАР), 117216, г. Москва, ул. Грина, 7

Для оценки антиоксидантных, антимикробных, антитоксических, гепатопротекторных, тонизирующих, иммуномодулирующих и дофаминергических свойств некоторых флавоноидов: флавона кверцетин (КВ), флаванона дигидрокверцетин (ДКВ), гликозида кверцетина рутина, флавоноидной фракции из листьев Гинкго Билоба (ФФГБ) применялись специфических ферментных биотест-систем *in vitro*.

Специфические ферментные биотест-системы *in vitro* позволяют оценить прямое влияние фитообъектов (1-100 мкг/мл) на некоторые ключевые ферменты, обеспечивающие нормальную жизнедеятельность организма, такие как глутатионредуктаза (ГР), каталаза (КАТ), НАДФН-оксидаза, глутатионтрансфераза (ГТФ), моноксигеназная система цитохрома P_{450}, пируваткиназа (ПК), тирозингидроксилаза (ТГ).

При изучении влияния флавоноидов на активность ферментных реакций *in vitro*, катализируемых ГР и КАТ, установлено активирующее влияние рутина на активность ГР- и КАТ-реакций в условиях *in vitro*: в 1,7 раза увеличивалась скорость ГР-реакции и в 1,2 раза – КАТ-реакции. Известно, что наблюдаемый эффект установлен для биологически активных веществ (БАВ) антиоксидантного действия. КВ оказывал слабое ингибирующее влияние на скорости реакций – ГР-ой на 18%, а КАТ-ой – на 20%, что соответствует наличию у него антимикробных свойств. Показано относительно невысокое сродство всех флавоноидов к НАДФН-оксидазе. Это позволяет предполагать, что иммунная система не является основной мишенью для флавоноидов. Максимальное активирующее влияние на скорость НАДФН-оксидазной реакции оказывает ФФГБ, ускоряя реакцию на 47% от скорости реакции с участием известного природного иммуноактиватора протимозина-α, взятого в качестве препарата сравнения. Флавоноиды оказывали непосредственное достоверное угнетающее влияние на активность ТГ-реакции, но количественно их эффекты были значительно слабее эффекта препарата сравнения – дофамина. В присутствии ДКВ скорость реакции составляла 68% от скорости реакции в контроле, в присутствии рутина – 61%, в присутствии ФФГБ – 82%. КВ проявлял более сильный ингибирующий эффект, чем остальные флавоноиды, и снижал скорость ТГ-реакции на 54%. Все флавоноиды увеличивали скорость ПКреакции, проявляя энергизирующие свойства, что свидетельствует о проявлении общих черт строения данных веществ. Максимальным энергизирующим действием обладал ДКВ, ускоряя реакцию в 1,9 раза. КВ и рутин – в 1,5 и 1,7 раза, соответственно, что может быть связано с идентичностью строения их агликона. Детоксицирующая активность исследованных флавоноидов уменьшается в ряду ДКВ>КВ>ФФГБ>рутин.

Выводы. Нами был предложен системный подход для первичного фармакологического скрининга фитообъектов, на примере флавоноидов, с использованием широкого диапазона методов исследования. Они позволяют разносторонне оценить влияние веществ на активность ключевых ферментов гомеостаза в условиях опытов *in vitro*. Разработанный нами биотехнологический подход позволяет определять вид биологической активности БАВ, выявлять вектор в направлении действия, делать вывод о том, какое из веществ является наиболее активным, а также подбирать оптимальную концентрацию БАВ для дальнейших фармакологических исследований в опытах *in vivo*.

SPECIFIC ENZYMATIC BIOTEST-SYSTEMS AS PHARMACOLOGICAL SCREENING TOOL

Ferubko E.V., Lupanova I.A., Leonidova Yu.A., Strelkova L.B., Kolkhir V.K.
National Research Institute of Therapeutic and Aromatic Plants (VILAR),
7 Grina Str., Moscow 117216, Russia

Specific enzymatic biotest-systems have been used to test antioxidant, antimicrobial, antitoxic, hepatoprotective, tonic, immunomodulatory and dopaminergic properties of some flavonoids *in vitro*, including flavones (quercetin), flavanones (dihydroquercetin, DHQ), quercetin glycosides (rutin), flavonoid fraction of Ginkgo biloba leaves (GBF).

Specific enzymatic biotest-systems allow direct *in vitro* assessment of phyto-substances' effect on key enzymes ensuring normal body functioning, e.g. glutathione reductase (GR), catalase (CAT), NADPH oxidase, glutathione transferase (GT), cytochrome P450 monoxigenase system (CYP), pyruvate kinase (PK), tyrosin hydroxylase (TH).

Evaluation of flavonoids' effect on GR- and CAT-mediated enzymatic reactions *in vitro* showed their induction by rutin: reaction was accelerated 1.7-fold for GR and 1.2-fold for CAT. This effect is known to be a class effect of biologically active antioxidants. Quercetin induced slight inhibition of GR- and CAT-mediated enzymatic reactions by 18% and 20% respectively, which reflects antimicrobial activity of the substance. All flavonoids demonstrated relatively weak affinity to NADPH-oxidase, which suggests that immune system is not a primary target for these substances. GBF treatment resulted in the largest acceleration of NADPH oxidase-mediated reaction (by 47% as compared to the effect of a known natural immunostimulant prothymosine-α used a reference substance). Flavonoids induced direct significant inhibition of TH-mediated reaction, though their effect was much weaker than that of a comparator substance dopamine. In the presence of DHQ, rutin and GBF the reaction rate was reduced to 68%, 61% and 82% of the control level respectively. Quercetin was more suppressive, than other flavonoids, and reduced the reaction rate by 54%. All flavonoids accelerated PK-mediated reaction, this showing energizing properties, which reflect common structural features of the substances. DHQ demonstrated the highest level of reaction acceleration (1.9-fold); quercetin and rutin accelerated it 1.5- and 1.7-fold respectively, which can reflect the identical structure of their aglycone moiety. Detoxifying activity of the studied flavonoids decreases in the following order: DHQ > quercetin > GBF > rutin.

Conclusions. We have proposed a systemic approach to primary pharmacological screening of phyto-substances in a wide test panel using flavonoids as an example. The test panel allows comprehensive assessment of the substances' effects on activity of key homeostasis enzymes *in vitro*. The biotechnological approach developed by us allows determination of the type and direction of the substances' biological activity, identification of the most active substances, and identification of the substances' optimal concentration for further pharmacological studies *in vivo*.

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ КЕРАТИНАЗЫ *PENICILLIUM CITRINUM* С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Гордонова И.К., Никитина З.К., Быков В.А.
ГНУ ВИЛАР РАСХН, 117216, Москва, ул. Грина, 7

Кератиназы являются перспективными медицинскими препаратами и применяются в различных областях, где необходим гидролиз кератинов. Получение их из животных тканей ограничено малым содержанием, однако возможно получение ферментов, используя микроорганизмы. Целью работы являлось изучение биофармацевтических свойств кератиназы, секретируемой *Penicillium citrinum*, для разработки лекарственных средств на ее основе.

Для выявления синтеза внеклеточных кератиназ проведен скрининг микромицетов с использованием кератина в качестве источника углерода. Наибольшая скорость роста, значительный индекс лизиса кератина и кератинолитическая активность культуральной жидкости были установлены для *Penicillium citrinum.* Разработан метод выделения и очистки кератинолитического фермента, секретируемого *P. citrinum,* включающий последовательное применение гель-фильтрации и аффинной хроматографии и позволивший получить электрофоретически гомогенный препарат с молекулярной массой 21 кДа, степенью очистки 64 раз и кератинолитической активностью 580±53 мкМ/мгхчас. Оптимальные pH и температура для фермента были 7,0 и 30^0C соответственно. PSMF практически полностью ингибировал кератиназу, в то время как EDTA и DTT не влияли на активность фермента. Изучение свойств полученного фермента позволило отнести его к нейтральным термолабильным кератинолитическим сериновым протеиназам. Фермент был активен в отношении кератинов различного происхождения и некоторых растворимых белков, что позволяет считать его перспективным не только в качестве кератиназы, но также и протеиназы. В то же время, коллаген и дипептиды, специфичные для него (Ley-Gly, Gly-Gly), не гидролизовались ферментом. Это является преимуществом при использовании кератиназы в медицинских и косметических целях, когда коллаген не должен быть поврежден. Полученные характеристики фермента являются основой для разработки лекарственных средств, содержащих кератиназу *P. citrinum.*

PENICILLIUM CITRINUM KERATINASE BIOPHARMACEUTICAL STUDY FOR NEW DRUGS CREATION

Gordonova I.K., Nikitina Z.K., Bykov V.A.
VILAR, 117216, Moscow, Green st., 7

Keratinases are the promising drugs for therapy and use in different fields were keratins should be hydrolyzed. Their obtaining from animal tissues is limited by the insufficient their content, however there is a possibility of enzymes production by various microorganisms.The aim of this investigation was the keratinase of *Penicillium citrinum* biopharmaceutical study for new drugs creation.

Micromycetes were screened with application of keratin as the source of carbon for detection of extracellular keratinases synthesis. The highest growth rate, index of keratin lyses and keratinolytic activity of culture media were found for *P. citrinum*. The method of isolation and purification of keratinolytic enzyme, secreting by *P. citrinum*, was developed, concluding consequent using of gel filtration chromatography and affinity chromatography, and allowing to receive electrophoretically homogeneous enzyme preparation with a molecular mass 21 kDa, the degree of enzyme clearining 64 times and keratinolytic activity 580±53 μM/mgxh. The optimal pH and temperature for enzyme were 7,0 and 30^0C, respectively. PSMF practically completely inhibited the keratinase, while EDTA and DTT didn't influence on enzyme activity. Studying the properties of the enzyme allows to consider it belonged to the neutral termolable keratinolytic serine proteinases. The enzyme was active upon the keratins of different origin and some soluble proteins, which allow consider it perspective not only as keratinase, but also as proteinase. At the same time collagen and dipeptides, specific for it (Ley-Gly, Gly-Gly), couldn't be hydrolyzed by the enzyme, and this is the advantage for the application of the keratinase for the cosmetic and pharmaceutical purposes or in the leather industry were collagen should not be attack. The obtaining results are the base for development of new drugs, containing *P. citrinum* keratinase.

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СТЕРОИД-ТРАСФОРМИРУЮЩИХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ГРИБНЫХ КЛЕТОК, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ В ГРАНУЛЫ КРИОГЕЛЯ ПВС

Карпова Н.В.[1], Андрюшина В.А.[1], Дружинина А.В.[1], Стыценко Т.С.[1], Ядерец В.В.[1], Рябев А.Н.[2], Подорожко Е.А.[2], Лозинский В.И.[2]

[1]*Центр "Биоинженерия" РАН,*
117312 Россия, Москва, пр-т 60-летия Октября д.7, к.1;
[2]*Институт элементоорганических соединений им. А.Н.Несмеянова РАН,*
119991 Москва, ул.Вавилова, д. 28

С целью оптимизации практически значимых в стероидном синтезе процессов 11β-гидроксилирования и 1,2-дегидрирования разработаны методики включения клеток бактериальной культуры *Pimelobacter simplex* ВКПМ Ас-1632 и грибной *Curvularia lunata* ВКПМ F-981 в гранулы макропористого криогеля поливинилового спирта (ПВС) и изучена стероид-трансформирующая активность иммобилизованных клеток. Иммобилизация обеспечивает многократное использование биомассы в биотрансформационных процессах, в то время как свободные клетки функционируют лишь однократно и для выделения целевых стероидов требуются дополнительные операции по удалению клеток и продуктов их деградации. Благодаря уникальным свойствам актинобактерии *P. simplex*, обладающей высокой стероид-1,2-дегидрогеназной активностью и сохраняющей жизнеспособность и активность при длительном хранении в виде декантированной биомассы (не менее 2 месяцев) при 4°С, и высоким эксплуатационным характеристикам используемого носителя – криогеля ПВС, полученные иммобилизованные клетки проявляли максимальную дегидрогеназную активность в многократных (более, чем 20) циклах биотрансформаций. Разработанная биотехнологическая система может быть использована в схемах синтеза стероидных препаратов, широко применяемых в медицинской и ветеринарной практике. В свою очередь, необходимость дополнительной активации иммобилизованных клеток гидроксилирующей культуры *C. lunata* в последующих циклах трансформации, а также потеря активности при хранении в физ. растворе в течение нескольких суток, свидетельствуют о их нестабильности, и, следовательно, невозможности использования данного метода в промышленном синтезе высокоактивных глюкокортикоидных препаратов.

EXAMINATION OF EFFICIENCY FOR THE STEROID-TRANSFORMING BACTERIAL AND FUNGAL CELLS BEING IMMOBILIZED IN BEADED PVA CRYOGEL

Karpova N.V.[1], Andryushina V.A.[1], Druzhinina A.V.[1], Stytsenko T.S.[1], Yaderetz V.V.[1], Ryabev A.N.[2], Podorozhko E.A.[2], Lozinsky V.I.[2]

[1]*Bioengineering Center, Russian Academy of Sciences,*
Moscow, 117312, Russia, Prosp. 60 let Oktyabrya 7, kor. 1;
[2]*A.N.Nesmeyanov Institute of Organoelement Compounds RAS,*
Vavilov Str. 28, 119991 Moscow

The goal of this study was the optimization of the 11β-hydroxylation and 1,2-dehydrogenation processes that are of principal significance for the synthesis of steroid compounds. This was done through the elaboration of techniques for the immobilization of Pimelobacter simplex VKPM Ac-1632 bacterial and Curvularia lunata VKPM F-981 fungal cells by their entrapment into the beaded poly(vinyl alcohol) (PVA) cryogel. The steroid-transforming activity of these immobilized cultures was then explored.

Such immobilization ensures multiple use of a biomass in the biotransformation processes, whereas free cells can be applied only once, and certain additional steps for removing the cells and their

debris are required upon the isolation of target steroids.

Owing to both the unique properties of *P. simplex* actinobacterium, which possesses high steroid-1,2-dehydrogenase activity and retains its viability and activity upon the long-term (no less than 2 months) storage as decanted biomass at 4°C, and high operational characteristics of the employed carrier – PVA cryogel, the cells thus immobilized have exhibited maximum dehydrogenase activity in the course of iterative (more than 20) biotransformation cycles. So, the elaborated biotechnological system can be implemented for the synthesis of steroid drugs that are widely utilized in medicine and veterinary.

In turn, the need for the additional activation of immobilized hydroxylating *C. lunata* cells in the subsequent transformation cycles, as well as the loss of cells' activity within a few days at storing in the physiological solution, testify to it's instability, and, therefore, the inability to use this method in the industrial synthesis of high-level glucocorticoid drugs.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИНИМАЛЬНЫХ ПОДАВЛЯЮЩИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ АНТИМИКОТИКОВ В ОТНОШЕНИИ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*

Криштопина А.С.[1], Рока В.В.[2], Няникова Г.Г.[1]
[1]*Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет), 190013, Санкт-Петербург, Московский пр., д. 26*
[2]*Научно – исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, 197101, г. Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14*

В настоящее время отмечается рост числа заболеваний, вызванных дрожжеподобными грибами рода *Candida*, которые поражают различные органы и ткани человека. На сегодняшний день существует ряд эффективных системных противогрибковых препаратов, однако, для успешной терапии до ее начала необходимо провести определение чувствительности возбудителя к антимикотикам.

Целью данной работы было определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) антимикотиков в отношении грибов рода *Candida* с использованием микрообъемного визуального метода их выявления в питательной среде, созданной в ФБУН НИИЭМ им. Пастера. Полученные данные будут положены в основу разрабатываемой отечественной тест – системы для определения чувствительности основных патогенных дрожжей к противогрибковым препаратам.

Были исследованы изоляты *Candida spp*., предоставленные лабораторией иммунологии ФБУН НИИЭМ им. Пастера. Изучено влияние растворителя на активность трех антимикотиков (амфотерицина В, флуконазола и итраконазола), целесообразность сорбции антимикотиков в лунки планшета и определена оптимальная концентрация индикатора резазурина в составе среды Сабуро. С учетом подобранных условий, были определены МПК антимикотиков в отношении 70 штаммов *Candida spp*. МПК амфотерицина В составила менее 2 мкг/мл для 67,1% штаммов; МПК флуконазола – менее 8 мкг/мл для 88,7% штаммов; МПК итраконазола – менее 0,5 мкг/мл для 74,6% штаммов.

В дальнейшем планируется определить МПК других противогрибковых препаратов в отношении 150 - 200 штаммов основных патогенных дрожжей.

DETERMINATION OF THE MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATIONS OF ANTIFUNGAL DRUGS FOR YEAST-LIKE FUNGI OF THE *CANDIDA* GENUS

Krishtopina A.S.[1], Roca V.W.[2], Nyanikova G.G.[1]
[1]*Saint-Petersburg State Institute of Technology (Technical University), 26, Moskovsky Prospect, 190013, St. Petersburg, Russia*
[2]*Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, 14, St. Mira, 197101, St. Petersburg, Russia*

Currently, there is growth in the number of diseases caused by yeast-like fungi of the *Candida* genus, which affect different organs and skin folds. Nowadays, there are a number of effective systemic antifungal drugs, but, for successful therapy is necessary to determine the sensitivity of *Candida* spp.

The aim of this investigation was to determine the minimum inhibitory concentrations (MIC) antifungal drugs against *Candida* fungi using microvolume and visual method of detecting them in the medium created in Pasteur Institute. These data will form the basis of the developed national kit for determining the sensitivity of the main pathogenic yeasts to antifungal drugs.

Investigated isolates of *Candida spp.* was provided by laboratory of immunology Pasteur's Institute. During the research there was determinated the influence of the solvent on the activity of three antifungals drugs (amphotericin B, fluconazole and itraconazole), the possibility of sorption antifungals drugs into the wells, and determined the optimal concentration of the indicator (resazurin) in the Saburo medium. Considering selected conditions there were obtained MICs antifungal drugs for 70 strains of *Candida spp.* It was found that MIC of amphotericin B was less than 2 µg / ml for 67.1% of the strains, MIC of fluconazole – less than 8 µg / ml for 88.7% of the strains; MIC itraconazole – less than 0.5 µg / ml for 74.6% of the strains.

In the future we are planning to determine the MICs of other antifungals drugs for 150 - 200 major pathogenic strains of yeast.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ МЕЛАНИНОВ КАК ОСНОВА ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ И КОСМЕТОЛОГИИ

Мирзаев М.Н., Мельницкая Т.И., Зверьков Д.А., Сопов Л.П., Почтарев А.Н.
ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологий имени К.И.Скрябина», г. Москва, ул. Ак. Скрябина, 23

Длинноцепочечные полифенольные биополимеры черного или коричневого цвета – меланины встречаются практически у всех живых организмов от бактерий до растений и животных, что, несомненно, свидетельствует о значительной роли этих соединений в жизненных процессах в целом. В опубликованных материалах содержится информация о способности меланинов защищать организмы от негативного действия УФ света, поглощая его и превращая в тепло и продукты фотохимических реакций, нейтрализовывать негативное действие ионизирующего излучения, некоторых химических веществ и свободных радикалов. Привлекает внимание то, что в клетках кожи меланин локализован около ядра защищая генетический материал от повреждающего действия УФ-излучения и других вредных факторов.

В свете изложенного нами проводятся исследования по разработке технологии выделения и очистки различных фракций растительных меланинов (РМ), изучению их физико-химических и фармако-токсикологических свойств. Получены высокоочищенные РМ в виде растворов и су-

хого порошка из гречихи, показано, что полифенольный комплекс растения содержит фракции, имеющие разную растворимость в воде и других растворителях.

Все фракции РМ не зависимо от растворимости имеют идентичные спектры поглощения в диапазоне 280-650нм, максимальная оптическая плотность наблюдается в УФ-области спектра. По параметрам безвредности, полученные РМ, относятся к 4 классу токсичности (ГОСТ 12.1.007 – 76), не оказывают раздражающего и сенсибилизирующего действия, не оказывают негативного действия на внутренние органы лабораторных животных. Установлено положительное действие РМ на показатели естественной резистентности (бактерицидная активность сыворотки крови, содержание лизоцима) лабораторных животных. Таким образом, РМ из гречихи представляются перспективной субстанцией для получения медицинских и косметических средств.

PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF PLANT MELANIN AS THE BASIS OF THEIR APPLICATION IN MEDICINE AND COSMETOLOGY

Mirzaev M.N., Melnitskaya T.I., Zverkov D.A., Sopov L.P., Pochtarev A.N.
Federal State Institution "Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after Skryabin", Moskva, ul. Ak. Scriabin, 23

Polyphenolic biopolymers black or brown – melanin found in virtually all living organisms from bacteria to plants and animals, which certainly shows a significant role of these compounds in the life processes in general. The published materials contain information about the ability of melanin protects the body from harmful effects of UV light, absorbing it and turning it into heat and products of photochemical reactions, neutralize the negative effects of ionizing radiation, certain chemicals and free radicals. Draws attention that the melanin in the skin cells localized near the core genetic material to protect from the damaging effects of UV rays and other harmful factors.

In the light of our studies on the development of technology for isolation and purification of various fractions of plant melanins (PM), the study of physical, chemical, and pharmacological and toxicological properties of them. Obtained highly purified PM in solution and dry powder of buckwheat, it is shown that the plant contains a complex polyphenolic fractions with different solubility in water and other solvents.

All fractions of PM, regardless of solubility have identical absorption spectra in the range of 280-650nm, the maximum optical density observed in the UV region of the spectrum. The parameters to the safety, received the RM belong to class 4 toxicity (GOST 12.1.007 - 76), not irritating and sensitizing effect, no adverse effect on the internal organs of laboratory animals. The positive effect of PM on the performance of natural resistance (bactericidal activity of serum lysozyme content) of laboratory animals.

Thus, the RM of buckwheat is promising substance for medical and cosmetic products.

БИОАНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ

Мишарина Т.А., Алинкина Е.С., Фаткуллина Л.Д., Медведева И.Б., Бурлакова Е.Б.
ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН.
119334, Москва, ул. Косыгина, 4, E-mail: tmish@rambler.ru

Актуальной задачей современной биохимии является поиск натуральных веществ растительного происхождения, защищающих от неблагоприятного действия окружающей среды,

способных выполнять профилактические функции и быть терапевтическими средствами взамен синтетических препаратов. Среди таких веществ важное место принадлежит эфирным маслам, которые являются смесью летучих веществ, выделяемых из пряно-ароматических растений. Целью работы являлось изучение биоантиоксидантных свойств масел при их приеме в малых дозах с питьевой водой мышами линии Балб. Мыши в течение 6 месяцев принимали по 150 нг/сут эфирные масла гвоздики, орегано или смесь масла лимона и экстракта имбиря с питьевой водой, затем в печени и мозге мышей опринтенсивность ПОЛ по накоплению ТБК-АП. Во всех опытных группах эти величины были меньше, чем в контрольной: для мозга на 21-33%, для печени – на 6-39%. Самой высокой активностью обладало эфирное масло лимона в смеси с экстрактом имбиря. Найдено, что при длительном употреблении эфирных масел они могут накапливаться в печени и даже мозге мышей: через 7 дней хранения при 2-5°С содержание ТБК-АП в печени и мозге мышей в контроле было выше в 2-3 раза по сравнению с опытными группами. Следовательно, компоненты эфирных масел влияли на процессы ПОЛ в органах мышей даже в очень малых дозах, то есть они являлись биоантиоксидантами. Возможно, более высокая активность смеси масла лимона и экстракта имбиря обусловлена тем, что около 70% веществ в экстракте имбиря составляли нелетучие ди- и тритерпеноиды, флавоноиды и замещенные метоксифенолы – гингеролы и гингероны, которые придают имбирю жгучий вкус и известны как эффективные природные антиоксиданты. Накопление таких соединений в тканях органов мышей обеспечивало более высокую эффективность смеси эфирного масла лимона и экстракта имбиря как биоантиоксидантов.

BIOANTIOXIDANT PROPERTIES OF ESSENTIAL OILS

Misharina T.A., Alinkina E.S., Fatkullina L.D., Medvedeva I.B., Burlakova E.B.
Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow;
4, Kosygin Street, Moscow, 119334, Russia. E-mail: tmish@rambler.ru

The search of natural substances of plant original is the actual problem in our time. Such compounds are able to protect the action of contamination of the environment as well as to posses the prophylactic and therapeutic properties instead synthetic preparates. In recent years, the presence of biological activity of many essential oils was found in various model systems. The aim of this work was studying the bioantioxidant properties of essential oils *in vivo*. We used mice line Balb and essential oils from bud glove, oregano and mixture of lemon oil with ginger extract. It was found that supplementation of 300 ng/day of essential oils with drink water for 6 months are reduced oxidation of lipids in the mice brain on 21-33% and liver on 6-39%. The mixture of lemon oil with ginger extract possessed the most efficiency. During the pronounced intake the essential oils may be accumulated in mice organs. The content of TBA-AP in brain and liver after 7 days storages these organs at 2-5°C of control group was higher in 2-3 fold than for experimental groups. Thus, essential oils with antioxidant ant antiradical properties in low doses effected on the mice brains and liver as bioantioxidant. Probable, the highest activity of mixture of lemon oil with ginger extract are stipulated the presence in ginger extract about 70% nonvolatile di- and triterpenoids, flavonoids and substituted methoxyphenols – gingerols and gingerons which are responsible for burning test of ginger. These substances are known as effective natural antioxidants.

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТОРОВ ПРЕПЯТСТВУЮЩИХ ПРАВИЛЬНОМУ ФОЛДИНГУ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ИНТЕРФЕРОНА А-2В

Панкеев Н.Н.[1], Кононова Н.В.[1], Бобрускин А.И.[1], Швец В.И.[2]
[1]*Российская фармацевтическая компания ЗАО «Мастерклон», Россия, 109004, Москва, ул. Александра Солженицына, д. 27*
[2]*Московский государственный университет тонких химических технологий имени М.В. Ломоносова, 119571, Москва, проспект Вернадского 86.*

Известно, что для проведения успешной терапии онкологических и вирусных заболеваний используют препараты, содержащие интерфероны. В настоящее время широчайшее применение находят рекомбинантные α-интерфероны (ИФН), получаемые в клетках E. coli. Среди таких препаратов особое значение имеет ИФНα-2b, обладающий противоопухолевой, иммунорегуляторной и противовирусной активностью.

При суперэкспрессии ИФНα-2b в прокариотических системах не происходит полного протеолиза формилированного N-концевого метионина (Met) – аминокислоты, предшествующей первому остатку цистеина, который участвует в образовании одной из двух S-S связей в молекуле белка. Эта модификация, возможно, влияет на его способность к ренатурации. В ранее проведенных экспериментах по оптимизации условий ренатурации ИФНα-2b соотношение нативного ИФН, восстановленного ИФН и родственных примесей (относительное время удерживания менее 5% от основного пика ИФНα-2b, определенное методом ОФ ВЭЖХ) стабильно составляло 54:20:26% соответственно. Целью данной работы являлось изучение структуры примесей и условий их образования. Экспрессию белка осуществляли в клетках *E. coli* BL21(DE3) в виде телец включения (ТВ). После культивирования ТВ содержали около 20% белка с неотщепленным N-концевым Met. С помощью секвенирования было показано, что N-формилметионин не оказывает влияния на правильный фолдинг ИФНα-2b, так как молекулы белка с N-формилметионином присутствовали как в основной фракции нативного белка, так и во фракции, содержащей родственные примеси.

Методом масс-спектрометрии мы определили, что побочным продуктам ренатурации соответствуют три модифицированные формы ИФНα-2b: ацетилированная (+41Да к массе), карбоксамидометилированая (+57Да к массе) и пируватная (+72Да к массе). Также было установлено, что все три модифицированные формы рекомбинантного ИФНα-2b присутствовали в тельцах включения изначально и происходили по N-концевому цистеину. Две из них (карбоксамидометилирование и присоединение пирувата) формируют кольцевые структуры с атомом серы, препятствуя образованию S-S связи. Таким образом, первый цистеин в молекуле ИФНα-2b подвержен посттрансляционным модификациям в процессе культивирования. Поэтому необходимо оптимизировать условия экспрессии для минимизации содержания модифицированных форм и/или разработать процедуру их перевода в нативную форму.

INVESTIGATION OF FACTORS INFLUENCING PROPER FOLDING OF RECOMBINANT HUMAN INTERFERON ALPHA-2B

N.N. Pankeev[1], N.V. Kononova[1], A.I. Bobruskin[1], V.I. Shvets[2]
[1]*The Russian pharmaceutical company ZAO Masterclone,*
109004, ulitsa Aleksandra Solzhenitsyna, 27, Moscow, Russia
[2]*Lomonosov Moscow University of Fine Chemical Technology,*
119571, prospekt Vernadskogo, 86, Moscow, Russia

To date medicines containing recombinant α-interferons (IFN) from E. coli. are widely used in treatment of various cancers and virus diseases. Among them IFNα-2b is of particular interest for its antitumor, antivirus and immunomodulatory activities.

During expression of IFNα-2b N-formylmethionine (N-Met)–a starting residue in the synthesis of proteins in bacteria–may not be fully processed and may interfere with protein renaturation since it foregoes the cysteine which forms one of the two disulfide bonds.

Our previous experiments for optimal refolding conditions continuously showed proportion between native IFNα-2b, reduced IFNα-2b and related impurities (relative retention time was less than 5% from major IFNα-2b peak, determined with RP-HPLC) of 54:20:26% . The aim of this work was to research the impurities structure and conditions for its formation.

Protein expression was conducted in *E. coli* BL21(DE3) strain in inclusion bodies (IB). About 20% of IB protein contained uncleaved N-Met. Using sequencing technics we showed that N-formylmethionine doesn't influence proper folding of interferon IFNα-2b since the ratio of N-Met molecules was about the same in the native form of IFNα-2b and impurities.

With the help of mass-spectrometry we found that folding by-products correspond to the three modified isoforms of IFNα-2b. They are acetylatylation (mass difference +41Da), carboxamidomethylation (mass difference +57Da) and pyruvate modification (mass difference +72Da) of the N-terminal cysteine. All modifications were present initially in the IB. Carboxamidomethylation and pyruvate modification form cyclic structures which prevent disulfide bond formation.

Thus the first cysteine residue in the IFNα-2b molecule is subjected to various modifications during fermentation process. Therefore we plan to optimize fermentation conditions for minimal isoform content and/or develop a conversion procedure that transforms them into a native form.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA* В ПОЛУЧЕНИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ И АНТИМИКРОБНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

Садыкова В.С.[1], Федорова Г.Б.[1], Катруха Г.С.[1], Кураков А.В.[2], Лысенко А.Е.[2]
[1]*ФГБУ НИИНА им. Г.Ф. Гаузе*
[2]*МГУ имени М.В. Ломоносова*

Микромицеты рода*Trichoderma* способны синтезировать соединения, обладающие противомикробной, противоопухолевой и фунгицидной активностью к условно-патогенным грибам. В последнее десятилетие особое внимание уделяется поиску штаммов-продуцентов новых активных соединений для нужд медицины, так как потенциал рода *Trichoderma* в этом аспекте еще мало изучен.

Скриниг проводили на наличие цитотоксической активности споровых и мицелиальных экстрактовтрех штаммов М-99/51 *Trichodermaharzianum,* Tv4-1*T.viride,* МГ-6 *T. asperellum.* Штаммы оценивали на трех линиях клеток: HaCaT-кератиноциты человека; HEK 293T-клетки эмбриональной почки человека и K562- линия клеток хронической миелоидной лейкемии.

У штаммов, проявивших цитотоксические свойства, исследовали их проапоптотическую активность и действие на клеточный цикл опухолевых клеток.

Высокая цитотоксическая активность для рода *Trichoderma* была отмечена у двух штаммов: TV4-1 иM99/51 в отношении всех линий опухолевых клеток. Анализапоптоза показал, чтоактивные вещества, содержащиеся в экстрактах штаммов TV4-1 иM99/5 вызывают индукцию апоптоза поздней стадии, но не оказывают влияния на жизненный цикл опухолевых клеток.

Помимо противоопухолевого эффекта интерес представляла оценка антимикробного спектра действия активных компонентов экстрактов штаммов. Исследовали антибактериальное действие на грамположительных (*Bacillussubtilis*, *B.coagulans,Staphylococcusaureus*) и грамотрицательных бактериях (*E.coli, Pseudomonasaeruginosa, Comamonasterrigena*), а также фунгицидную активностьюв отношении условно-патогенных грибов *Aspergillusniger*,*Asp. fumigatus* и дрожжей *Candidatropicales* и плесневых микромицетов видов*Asp. oryzae*, *Asp. tereus*, *Asp. nidulans,Asp. ustus,Asp. fisheri, Asp. flavus.*

Штамм TV4-1обладал широким спектром антимикробного действия, эффективно подавлял рост грамположительных (*Bacillussubtilis*, *B.coagulans,Staphylococcusaureus*), грамотрицательных бактерий (*E.coli, Pseudomonasaeruginosa, Comamonasterrigena*)иобладал фунгицидной активностьюв отношении условно-патогенных грибов *Aspergillusniger*,*Asp. fumigatus* и дрожжей *Candidatropicales*, а также всех видов плесневых грибов. Для штамма M99/51 характерна высокая активность в отношении грамположительных бактерий, однако у него полностью отсутствовала фунгицидная активность. Штамм МГ-6 проявил активность в отношении грамположительных бактерий и обладал высокой фунгицидной активностью к плесневым и условно-патогенным грибам.

Таким образом, штаммыM-99/51 *Trichodermaharzianum*иTv4-1*T.viride*продуцируют вещества, обладающие цитотоксическим и пропаптотическим эффектом, а также проявляют активность в отношении патогенных грибов и бактерий, что может представлять интерес для дальнейшего изучения спектра продуцируемых ими соединений.

PERSPECTIVE OF TRICHODERMA METABOLITES AND EXTRACTS FOR THE CREATION OF NEW PHARMACEUTICAL PRODUCT WITH ANTICANCER ACTIVITY

Sadykova V.S.

This dominance is achieved biosynthesizing a wide array of secondary metabolites with different activity.Thereby, not only potential antibiotics (for example the peptaibols) but also mycotoxins and more than 200 metabolites with antibiotic activity including polyketides, pyrones, terpenes, metabolites derived from amino acids, and polypeptides (Ghisalberti,1993) were detected in Trichoderma spp..

Beside well-known antifungal activity some *Trichoderma* species exhibited anticancer and antimicrobial activity.However potential of Trichodermafungi as producers of metabolites with strong inhibitory activity againstcancer cell are little investigated. Thereupon they can represent still untapped biological source of potent new pharmaceuticalproduct with anticancer activity.

Our purpose was to evaluate the activity of samples with different compositions and from different *Trichoderma* species. We tested whole metabolites, and extracts from spores and mycelium. The chemical composition of the samples was unknown.Initial selection of potential toxic activity was investigated *in vitro* on Ehrlich's carcinomas on 50 strains of different *Trichoderma* species (the data not shown).The analysis of toxic activity were done on different cell line, including: Ehrlich's carcinomas;K562 cell – human chronic myelogenous leukemia cell line; HaCaT – human keratinocyte cell line; HEK 293T – human Embryonic Kidney 293 cells.

The 3 most active strains were then tested in three cell lines: K562, HaCaTand HEK 293Tcancer cells on the effect of growth inhibition and the induction of apoptosis. High cytotoxic activity has been observed at TV4-1, M99/51 against all cell lines. The expressed cytotoxic activity possesses only metabolitesor mycelium extracts of TV4-1, M99/51 and 30.For example, some of the samples containing metabolites or mycelium extract of the same strain demonstrated high activity, whereas spores extracts of this strain were inactive. Growth inhibition against three cell lines ranged from 35% to 96% exhibited a complete or partial cytostatic effect. Beside anticancer property the antimicrobial effect towards gram-positive (*Bacillussubtilis*, *B. coagulans,Staphylococcusaureus*) and gram-negative bacteria (*E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Comamonasterrigena*), and well-known opportunists fungi*Aspergillusniger*, *Asp. fumigatus*идрожжей*Candidatropicales*and mould fungi*Asp. oryzae*, *Asp. tereus*, *Asp. nidulans,Asp. ustus,Asp. fisheri, Asp. flavus*have been observed.

The strainTV4-1 has demonstratedthe wide spectgrum of activity towards (*Bacillussubtilis*, *B. c oagulans,Staphylococcusaureus*), *E. coli, Pseudomonas aeruginosa, Comamonasterrigena*and fungi*Aspergillusniger*, *Asp. Fumigatus,Candidatropicales*, including moldfungi. MG-6 hasstrong antifungal effect against the growth of the fungus. StrainM-99/5was found to inhibit

the growth of gram-positive bacteria.

The results obtained in this study are useful for the further research on the identification of the effective component in fungal metabolites and the mechanism why metabolites were effective.

СКРИНИНГ НЕМАТОЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АВЕРМЕКТИНОВ B_1 И НЕКОТОРЫХ СОЕДИНЕНИЙ СТЕРОИДНОЙ ПРИРОДЫ

Джафаров М.Х., Мирзаев М.Н., Василевич Ф.И., Заварзин И.В., Мельницкая Т.И.,
ФГБОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологий им. К.И.Скрябина», г. Москва, ул. Ак. Скрябина, 23

Развитие резистентности [1] к применяемым в настоящее время важным антгельминтикам широкого спектра действия стимулирует поиск средств с новым механизмом действия и/или эффективных в рамках механизма действия существующих субстанций. В поиске новых противопаразитарных субстанций нами получена серия полусинтетических производных авермектина B_{1a} и различных по родоначальной структуре N- и S-содержащих стероидных соединений [2].

Проведен скрининг нематоцидной активности 11 производных авермектина B_1 и 16 стероидных соединений с применением олигохет Tubificidae в качестве тест-объектов и отобраны кандидаты для дальнейших исследований.

На основе гемисукцината авермектина B_1 разработана лекарственная форма гемакс и получена экспериментальная партия этого препарата. В результате проведенных испытаний в лабораторных и производственных условиях на овцах, пораженных стронгилятозами ЖКТ, и коровах, инвазированных подкожным оводом, установлена высокая эффективность препарата. Накожная форма препарата при применении против гиподерматоза коров не попадает в молоко, что свидетельствует о перспективности применения его на дойном стаде.

Установлено, что стероидное соединение, имеющее рабочее название pro-S.1.1, вызывает лизис олигохет, поэтому отобрано для изучения на наличие других биологических активностей, в частности, противоопухолевой и противобактериальной активности.

1 Prichard R.K.Ivermectin resistance and overview of the Consortium for Anthelmintic Resistance SNPs. // Expert Opin. Drug Discov. 2007. – №2. – P.41-52.

2 Джафаров М.Х., Максимов В.И.Стероиды. строение, получение, свойства и биологическое значение.Применение в медицине и ветеринарии. СПб.: ООО «Лань», 2010.-288 с.

SCREENING OF NEMATOCIDE ACTIVITY OF THE NEW DERIVATIVES OF AVERMECTINS B1 AND SOME COMPOUNDS OF STEROID NATURE

Dzhafarov M. Kh., Mirzaev M.N., Vasilevich F.I., Zavarzin I.V., Melnitskaya T.I.,
Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin, Moscow, Ak. Skriabini str, 23, mxd123@mail.ru

The development of resistance [1] to presently applied important anthelmintic drugs of a wide spectrum of action stimulates the search for anthelmintic drugs with a new mechanism of action and/or efficient in terms of the mechanism of action of existing substances. Multicomponent antiparasitic drugs are often used for the successful struggle against resistence.

We searched for new nematocide substances and obtained a series of semisynthetical derivatives of avermectin $B_{1a}$and N- and S-containing steroid compounds differed in the original structure [2].

The screening of the nematocide activity of 11 derivatives of avermectin B_1 and 16 steroid compounds was carried out using oligochaetes *Tubifex tubifex* as test objects, and candidates for further studies were selected.

The Gemax drug was developed on the basis of avermectin B_1 hemisuccinate, and an experimental batch of this drug was obtained. The high efficiency of Gemax was established by the tests performed under agricultural field conditions on sheep with gastrointestinal tract strongilatosis.

One of the steroid compounds with the working name pro-S.1.1 caused oligochaete lysis and, therefore, was studied for the presence of other biological activities, in particular, antitumor activity.

1 Prichard R.K.Ivermectin resistance and overview of the Consortium for Anthelmintic Resistance SNPs. // Expert Opin. Drug Discov. 2007. – №2. – P.41-52.

2 Dzhafarov M.Kh., Maksimov V.I. Steroids. Structure, preparation, properties and biological significance, applications in medicine and veterinary medicine. St. Petersburg: Publishing House “Lan’”.- 2010.- 288 p.

ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ВАНАДИЯ В КЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ЦИАНОБАКТЕРИИ SPIRULINA MAXIMA

Васильева С.Г.[1], Седых И.М.[2], Лукьянов А.А.[1], Васильев В.Г.[1], Тамбиев А.Х.[1],
[1]*МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет, 119991, г. Москва, Ленинские горы, 1/ 12;*
[2]*Институт геохимии и аналитической химии им. В.И. Вернадского, 119334, г. Москва, ул. Косыгина, 19.*

Цианобактерии рода Spirulina (*Spirulina platensis, Spirulina maxima*) являются широко распространенными объектами фотобиотехнологии, способными накапливать в органической форме эссенциальные элементы, необходимые для человека. Использование соединений ванадия вызывает большой интерес, так как они могут имитировать эффекты инсулина в организме человека, органические соединения ванадия являются более эффективными и безопасными, чем неорганические.

Целью нашей работы было изучение распределения накопленного клетками *S. maxima* ванадия во фракциях клеточных компонентов.

Культивирование *S. maxima* проводили на среде Заррука при температуре 26-28^{0}C. В среду добавляли ванадий в катионной ($VOSO_4$*$3H_2O$) и анионной форме ($NaVO_3$) на 7-ые сутки роста. На 21-е сутки роста клетки отделяли от среды. Ванадий, связанный с поверхностными структурами клеток, десорбировали 0,03М раствором ЭДТА. Получение фракций *S.maxima*, содержащих гидрофильные, гидрофобные и амфифильные компоненты клеток осуществляли по методу

Фолча. Определение содержания ванадия во фракциях проводили методом электротермической атомно-абсорбционной спектрометрии.

Было показано, что значительная часть ванадия (более 70%) адсорбируется поверхностными структурами клеток *S. maxima*. В цитоплазме клеток 45-53% ванадия содержалось во фракции полярных компонентов, включающей в основном растворимые белки цитоплазмы, 18-25% – во фракции неполярных компонентов, где он, возможно, связан с амино- или фосфатными группами фосфолипидов, липополисахаридов и липопротеинов. Присутствие ванадия в количестве 30-37% в составе нерастворимых клеточных компонентов может быть связано с его включением в состав углеводных гранул, а также со связыванием с белками, входящими в состав хлорофилл-белкового комплекса. При этом данные по ванадилу (+4) и ванадату (+5) существенно не отличаются.

THE INVESTIGATION OF VANADIUM DISTRIBUTION IN CELL'S FRACTIONS OF CYANOBACTERIUM SPIRULINA MAXIMA

Vasilieva S.G.[1], Sedykh I.M.[2], Lukyanov A.A.[1], Vasiliev V.G.[1], Tambiev A.H.[1]
[1]*Faculty of Biology, Moscow State University after M.V.Lomonosov,*
119991, Moscow, Leninsky Gory, 1/12.
[2]*Vernadsky Institute of Geochemistry*
and Analytical Chemistry of Russian Academy of Sciences,
119334, Moscow, Kosygina str.,19

Cyanobacteria of Spirulina genus (*Spirulina platensis, Spirulina maxima*) are widespread objects of photobiotechnology, which can accumulate essential for human elements in organic form. The using of vanadium compounds is of great interest, for they can mimic the insulin effects in human body. Organic compounds of vanadium are less toxic and more effective than inorganic ones.

The goal of our work was to investigate vanadium distribution in the cells fractions of *S. maxima*.

S.maxima was being cultivated in Zaruka medium at the temperature 26-28^{0}C. Cation ($VOSO_4*3H_2O$) and anion ($NaVO_3$) forms of vanadium were added to medium on the 7-th day of growth. On the 21-th day of growth cells were separated from the medium. The vanadium, bound with the surface structures of cells, was desorbed by 0,03M medium of EDTA. The obtaining of hydrophilic, amphiphilic and hydrophobic fractions of cells components was conducted by Folch method. Vanadium contents were defined by method of thermal-electric atomic absorptive spectroscopy.

It was shown, that the considerable part of vanadium (more than 70%) was absorbed by the surface structures of *S. maxima* cells. In cytoplasm of cells 45-53% of vanadium was in fraction of polar components, which mainly contains the soluble proteins of cytoplasm, 18-25% was in fraction of unipolar components, probably connected with amino and phosphate groups of phospholipid, lipopolysaccharide and lipoproteins. The presence of vanadium (30-37%) in fraction of insoluble cells components may be explained by its inclusion in carbohydrates granules and its binding with proteins of chlorophyll-protein complex. There were no significant differences between vanadyl and vanadate adding to medium.

БЕЛКОВЫЕ КОМПОНЕНТЫ ФАСОЛИ И ПОЛУЧЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ЛЕКТИНОВ

Жумабаева Б.А., Айташева З.Г., Джангалина Э.Д., Бекебаева Ж.Н., Уразова Ж.А.
КазНУ им. аль-Фараби, Казахстан, 050040, г. Алматы, аль-Фараби, 71

Среди зернобобовых культур фасоль занимает одно из ведущих мест и является уникальным источником биологически активных веществ. Например, белковый комплекс фасоли содержит ряд биологически активных веществ, которые делают ее перспективной с точки зрения биотехнологической переработки и получения новых фитопрепаратов для сельского хозяйства и медицины. Комплексное применение таких препаратов позволит увеличивать урожаи и получать экологически чистую биопродукцию.

В последние годы для выявления перспективных образцов с повышенной питательной ценностью за счет увеличения содержания, сбалансированности и доступности аминокислот, а также высоким содержанием и активностью лектинов особенно актуально проведение биоскрининга сортоформ фасоли, в частности казахстанской селекции.

Удобной моделью для получения лектинов является культура изолированных клеток и тканей растений. Выделение лектинов и тестирование фитогемаглютинирующей активности семян и каллусных тканей фасоли позволит установить вариабельность уровня лектиновой активности на клеточном, тканевом и организменном уровнях. В наших исследованиях разработан протокол получения каллусных культур казахстанских сортообразцов фасоли, определены оптимальные условия накопления клеточной биомассы. Проведен биохимический анализ исходного материала коллекции фасоли. Определены белковистость и ряд других биохимических параметров. Показано, что содержание незаменимых аминокислот в казахстанских сортообразцах фасоли составляет 27,5-29,8%. Местные сортоформы «Актатти» и «Карагоз» лидируют по содержанию серосодержащих аминокислот, метионина и цистеина и значительно превосходят российские и американские аналоги.

Таким образом, каллусные культуры отобранных образцов фасоли будут использоваться в качестве источника для получения лектинов, необходимых для сельского хозяйства и медицины.

PROTEIN COMPONENTS OF COMMON BEAN SEED AND ISOLATION OF HIGH-LECTIN CELL CULTURES

Zhumabaeva, B.A., Aytasheva, Z.G., Dzhangalina,
E.D., Bekebayeva, Zh., and Urazova Zh.A.
al-Farabi Kazakh National University,
Almaty 050040, 71 al-Farabi Ave., Republic of Kazakhstan;
beibytgul.zhumabaeva@kaznu.kz

Common bean among the Phabaceous spp. is the leading crop being a unique source of biologically active substances. For instance, seed protein composition of common bean contains a range of anti-nutritional and toxic factors which may be used for their further biotechnological processing towards novel phytopreparations used in agriculture and medicine. Versatile implications of such preparations would enable increasing yields as mounting ecologically clean bioproducts.

Since recently bioscreening of common bean cultivars including those of Kazakhstani breeding, is considered to be significant for revealing perspective cultivars with better nutritional value due to more valuable seed content, available and balanced amino acids as well as high lectin content and activity.

Isolated plant cells and tissue cultures are convenient models for lectin purification. Lectin isolation and testing of common bean seed and callus phytohemagglutinating activities would allow to establish variability of lectin activities at cell, tissue and whole-plant levels.

In our studies the protocol of calli propagation for Kazakhstani common bean varieties has been developed which has assisted in determining optimal conditions for cell biomass proliferation. Biochemical analysis has been carried out across stock collection of common bean cultivars. It has been shown that the seed content of essential amino acids among the Kazakhstani cultivars would reach 27.5-29.8%. Local forms, "Aktatti" and "Karagoz" are leading by the content of sulfur-containing amino acids, methionine and cysteine, and these forms exceed substantially Russian and American analogues.

Thus, the calli of chosen common bean cultivars are supposed to be used the sources for lectin purification required for agriculture and medicine.

СЕКЦИЯ «БИОИНФОРМАТИКА»
SECTION "BIOINFORMATICS"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

КОМПЬЮТЕРНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ФЕНОТИПИРОВАНИЯ ПШЕНИЦЫ

Афонников Д.А.[1,2], Дорошков А.В.[1], Генаев М.А.[1], Пшеничникова Т.А.[1], Тарасова И.А.[2], Морозова Е.В.[1], Симонов А.В.[1]
[1]*Институт цитологии и генетики СО РАН, пр. Лаврентьева 10, Новосибирск, 630090*
[2]*Новосибирский Государственный Университет, ул. Пирогова, 2, Новосибирск, 630090*

Необходимость быстрых и точных методов для широкомасштабного определения фенотипических характеристик растений при изучении взаимосвязи между фенотипом и генотипом растений в последнее время становится все более очевидной в связи с появлением новых высокопроизводительных методов анализа геномов. В настоящее время генетические эксперименты могут включать анализ данных для десятков тысяч растений. Поэтому традиционные методы определения фенотипических характеристик (на ощупь, при помощи линейки, визуально) для таких массивов данных оказываются неэффективными. Современные подходы к фенотипированию нацелены на использование автоматических технологий, которые обеспечивают быстрый сбор данных, высокую точность определения характеристик фенотипа, измерение принципиально новых фенотипических параметров и исключение субъективизма человека из процесса измерений. Кроме того, новые технологии позволяют заносить произведенные измерения в компьютерные базы данных, что существенно уменьшает время обработки данных.

В настоящей работе мы представляем информационную систему WheatPGE (Wheat: Phenotype=Genotype+Environment) направленную на решение задачи интеграции геномных и фенотипических данных, а также параметров окружающей среды в месте произрастания растений, на анализ взаимоотношений между генотипом, фенотипом и окружающей средой в селекционно-генетических экспериментах у пшеницы. Система направлена на консолидацию различных данных о растениях, сбору и хранению информации о морфологических признаках и генотипах пшеницы, и информации факторах окружающей среды. Система доступна по адресу www.wheatdb.org. Возможности системы продемонстрированы при решении задачи высокопроизводительного фенотипирования опушения листа пшеницы.

This work supported by Programs Б.25 and A.II.6 from the Russian Academy of Sciences and Scientific School grant НШ-5278.2012.4.

COMPUTER APPROACHES TO WHEAT PHENOTYPING

Afonnikov D.A.[1,2], Doroshkov A.V.[1], Genaev M.A.[1], Pshenichnikova T.A.[1], Tarasova I.A.[2], Morozova E.V.[1], Simonov A.V.[1]
[1]*Institute of Cytology and Genetics SB RAS,*
10 Lavrentyev Ave., Novosibirsk, 630090, Russia
[2]*Novosibirsk State University,*
2 Pirogova St., Novosibirsk, 630090, Russia

The growing need for rapid and accurate approaches for large-scale assessment of phenotypic characters in plants becomes more and more obvious in the studies looking into relationships between genotype and phenotype. This need is due to the advent of high throughput methods for analysis of

genomes. Nowadays, any genetic experiment involves data on thousands and dozens of thousands of plants. Traditional ways of assessing most phenotypic characteristics (those with reliance on the eye, the touch, the ruler) are little effective on samples of such sizes. Modern approaches seek to take advantage of automated phenotyping, which warrants a much more rapid data acquisition, higher accuracy of the assessment of phenotypic features, measurement of new parameters of these features and exclusion of human subjectivity from the process. Additionally, automation allows measurement data to be rapidly loaded into computer databases, which reduces data processing time.

In this work, we present the WheatPGE information system designed to solve the problem of integration of genotypic and phenotypic data and parameters of the environment, as well as to analyze the relationships between the genotype and phenotype in wheat. The system is used to consolidate miscellaneous data on a plant for storing and processing various morphological traits and genotypes of wheat plants as well as data on various environmental factors. The system is available at www.wheatdb.org. Its potential in genetic experiments has been demonstrated in high-throughput phenotyping of wheat leaf pubescence.

This work supported by Programs Б.25 and A.II.6 from the Russian Academy of Sciences and Scientific School grant НШ-5278.2012.4.

БЫСТРАЯ РАЗРАБОТКА ВАКЦИН НА ОСНОВЕ ПОЛНОГЕНОМНОГО СКРИНИНГА ПРОТЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ВИРУСНЫХ ПРОТЕОМАХ

Боровков А.Ю.,
Synbuild LLC, г. Темпе, США

Используя возможности ДНК секвенироватия второго поколения, высокоскоростной генной сборки и генетической иммунизация мы развили технологию позволяющую быструю разработку защитных вакцин против различных вирусных и микробных патогенов. Процесс начинается с идентификации белок-кодирующих последовательностей на базе уже существующего или *de novo* секвенированого генома и синтетической сборки этих последовательностей в линейные экспрессионные элементы. Собранные экспрессионные элементы смешиваются в аккуратно разработанных группы которые в свою очередь используются для генетической иммунизации модельних животных. Анализ антигенных смесей использованных для иммунизировации животных нечуствительных к заражению патогеном позволяет идентифицировать конкретные антигены ответственные за защиту. Весь процесс занимает 4-6 месяцев в основном затраченных на иммунизацию и инфицирование иммунизированых животных. К сегодняшнему дню технология была использована на более чем десятке различных вирусных и микробных патогенов и позволила идентифицировать ряд ранее неизвестных защитных антигенов которые в настоящее время используются для разработки коммерческих вакцин.

THE RAPID DEVELOPMENT OF VACCINES BASED ON GENOME-SCREENING OF PROTECTIVE ANTIGENS IN BACTERIAL AND VIRAL PROTEOMES

Alex Y. Borovkov, Kathryn F. Sykes, Andrey V. Loskutov
Synbuild, LLC,
1615 W. University Dr. Tempe, AZ 85281

By combining capabilities of the second generation sequencing, high throughput gene assembling and genetic immunization we have developed a technology enabling fast vaccine development

against new and emerging pathogens. The process starts with parsing a readily available or a *de novo* sequenced genome of a pathogen into a set of putative protein coding regions, which then are synthesized and assembled into linear elements suitable for transient expression. Next, these expression elements are mixed together into a set of pre-designed pools and used for genetic immunization of model animals. The immunized animals are challenged with the pathogen and protective antigens identified as those shared by the protected groups. The entire process takes 4-6 months with most time spent on immunization and challenge of the animals. To the date the technology has been tested on over a dozen of viral and microbial pathogens and led to identification of a number of previously unknown protective antigens that are currently at different stages of commercial vaccine development.

АВТОМАТИЧЕСКОЕ ИЗВЛЕЧЕНИЕ ЗНАНИЙ ИЗ ТЕКСТОВ В ОБЛАСТИ БИОМЕДИЦИНЫ И БИОТЕХНОЛОГИИ

Иванисенко В.А., Деменков П.С.
ИЦиГ СО РАН, 630090, г. Новосибирск

Были разработаны компьютерные системы (ANDCell и ANDNanobiotech) для автоматического извлечения знаний из научных текстов (PubMed) и баз данных. ANDCell предназначена для реконструкции семантических ассоциативних сетей в области системной биологии, включающих молекулярно-генетические взаимодействия, события регуляции генов, каталитические процессы, протеолиз, связи полиморфных генов с заболеваниями, ассоциации и т.д. ANDNanobiotech ориентирован на нанобиотехнологии (системы доставки препаратов, маркировку, диагностику, лечение, микрофлюидики, имплантаты, трансплантаты, биосенсоры и т.д.). Информация извлекается с помощью оригинального метода text-mining. База знаний ANDCell содержит около 40 миллионов фактов, ANDNanobiotech содержит около 1,5 миллионов фактов. Программа ANDVisio предоставляет доступ к базам знаний и отображает результаты реконструкции ассоциативных сетей в графическом виде. Вершинами таких сетей являются молекулярно-генетические объекты (гены, белки, микроРНК, метаболиты, клеточные компоненты), заболевания, процессы, наноматериалы и нанобиоконструкции, а ребра между вершинами представляют различные типы связей. Для молекулярных взаимодействий и ассоциаций приведена информация о типах клеток и организмах. Системы обеспечивают дружественный пользовательский интерфейс. Пользователю доступны ссылки на молекулярно-генетические базы данных и статьи, из которых была извлечена информация. Разработанные системы могут быть полезны для решения широкого круга задач в области биологии, биомедицины и нанобиотехнологии.

Доступность: ANDCell и ANDNanobiotech доступны по запросу к авторам. Работа была частично поддержана государственным контрактом Роснауки № 14.740.11.0001.

AUTOMATIC EXTRACTION OF KNOWLEDGE FROM TEXTS IN THE FIELD OF BIOMEDICINE AND BIOTECHNOLOGY

Ivanisenko V.A., Demenkov P.S.
Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 630090

Computational systems (ANDCell and ANDNanobiotech) for automated extraction of knowledge from scientific texts (PubMed abstracts) and databases were developed. The ANDCell is targeted on the reconstruction of semantic associative networks in systems biology (molecular genetic interactions, gene regulation events, catalytic processes, proteolysis, polymorphic gene – disease associa-

tions, etc.). The ANDNanobiotech is targeted on nanobiotechnology (drug-delivery systems, labeling, diagnostics, treatment, microfluidics, implants, grafts, biosensors among others.). Information is extracted with the aid of original text-mining technology. The ANDCell knowledge base contains about 40 millions of facts, the ANDNanobiotech knowledge database contains about 1,5 millions of facts. The ANDVisio program provides the access to the knowledge base and the representation of the results in a graphic form of reconstructed associative networks. The vertices of such networks are the molecular genetic objects (genes, proteins, microRNAs, metabolites, cellular components), diseases, processes, nanomaterials and nanobioconstructs while the edges between the vertices represent various types of associations. For molecular interactions and associations, data on the cell types and organisms are represented. The systems provide a user's friendly interface implemented links to the molecular-genetic databases and the articles from which information was extracted. The developed systems may be useful for resolving a wide range of tasks in biology, biomedicine and nanobiotechnology.

Availability: The ANDCell and ANDNanobiotech systems are available at request to the authors. Work was supported in part by Government contract FASI №14.740.11.0001.

ПРОГРАММНЫЙ КОМПЛЕКС L-MOLKERN ДЛЯ РАСЧЕТОВ РАЗНОСТЕЙ СВОБОДНЫХ ЭНЕРГИЙ С УЧЕТОМ ЭФФЕКТОВ ПОЛЯРИЗАЦИИ

Фомин Э.С., Алемасов Н.А.
Институт Цитологии и Генетики СО РАН,
г. Новосибирск, пр. Лаврентьева 10

В работе представлен программный комплекс L-MOLKERN, предназначенный для решения задачи расчета разностей свободных энергий ΔG точечных мутаций белков методом "алхимической" λ-динамики. Для увеличения точности расчетов мутаций, связанных с различным зарядовым состоянием в L-MOLKERN реализован оригинальный NET-Q метод учета эффектов поляризации, основанный на принципе уравновешивания электроотрицательностей.

С помощью программного комплекса L-MOLKERN выполнены расчеты точечных мутаций белка барназы (PDBID: 1A2P), которые не связаны (мутация A32G) и связаны (мутация R72G) с изменением зарядового состояния белка. Для A32G полученная разность свободных энергий ΔG=37.6 кДж/моль согласуется (в пределах точности ±4 кДж/моль силового поля AMBER) со значением 36.1 кДж/моль, представленным в [1]. Для R72G полученное значение ΔΔG=19.8 кДж/моль для двойной разности свободных энергий мутантного белка относительно его нативной формы находится существенно ближе к экспериментальному значению ΔΔG=10.45 кДж/моль [2], чем рассчитанная при использовании фиксированных зарядов величина ΔΔG=57.67 кДж/моль в [1].

Таким образом, учет изменения заряда при расчетах разностей свободных энергий обеспечивает лучшее согласие расчетных данных с экспериментальными значениями для точечных мутаций, связанных с изменением зарядового состояния. Детальное описание используемых методов и параметров расчетов опубликовано в [3].

[1] Seeliger D., de Groot B.L.Biophysical Journal. 2010. V. 98. No 10. P. 2309–2316.

[2] Kumar M.D., Bava K.A., et all. Nucleic Acids Res. 2006. V. 34. P. D204–D206.

[3] Fomin E

.S., Alemasov N.A.Russian Journal of Genetics: Applied Research, 2012, Vol. 2, No. 6, pp. 453–461.

L-MOLKERN SOFTWARE FOR CAPTURING POLARIZATION EFFECTS IN FREE ENERGY CALCULATIONS

Fomin E.S., Alemasov N.A.
Institute Cytology & Genetics SB RAS ,
av. Lavrentiev, 10, Novosibirsk, Russia

We present a program, L-MOLKERN, for free energy difference calculations of single point mutations of proteins by the "alchemical" λ-dynamics. To include polarization effects and thus to increase the accuracy of calculations for mutations involving charged amino acid residues we have developed a new method, NET-Q, which is based on the equilibration principle of electronegativity.

For two single point mutations of barnase protein (PDBID: 1A2P), one of which is electrostatically neutral (A32G) and the other is charged (R72G), we calculated free energies differences by the L-MOLKERN. For the neutral mutation A32G, the free energy difference obtained is equal to ΔG=37.6 kJ/mol that is consistent, within the accuracy ± 4 kJ/mol of the AMBER force field, with the value of 36.1 kJ/mol obtained in [1]. As for the charged R72G mutation, our result ΔΔG=19.8 kJ/mol is much closer to the experimental value ΔΔGexp=10.45 kJ/mol [2] than that of ΔΔGcalc=57.67 kJ/mol calculated without polarization effects in [1].

Thus, inclusion of polarization effects in free energy calculations provides a better agreement between calculated and experimental values for single point mutations involving charged amino acid residues. A detailed description of the methods used and calculation parameters was published in our previous paper [3].

[1] Seeliger D., de Groot B.L.Biophysical Journal. 2010. V. 98. No 10. P. 2309–2316.
[2] Kumar M.D., Bava K.A., et all. Nucleic Acids Res. 2006. V. 34. P. D204–D206.
[3] Fomin E.S., Alemasov N.A.Russian Journal of Genetics: Applied Research, 2012, Vol. 2, No. 6, pp. 453–461.

СЕМЕЙСТВА ПЛАСТОМНЫХ БЕЛКОВ ЗЕЛЁНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ И РАСТЕНИЙ

Любецкий В.А., Селиверстов А.В., Зверков О.А.
Институт проблем передачи информации им. А.А. Харкевича РАН
127994, г. Москва, ГСП-4, Большой Каретный переулок, 19, стр. 1

Получена принципиально новая обширная база данных, описывающая семейства родственных пластомных белков из рано отделившихся ветвей Viridiplantae и видов с родственными пластидами, полученными в результате вторичного эндосимбиоза: Euglena gracilis, E. longa (из отдела Euglenozoa) и Bigelowiella natans (из группы Rhizaria). Для этого разработан оригинальный алгоритм кластеризации, адекватный задаче. База данных вместе с алгоритмом поиска кластеров по филогенетическому профилю белка (и другими функциями поиска и анализа) доступны по адресу http://lab6.iitp.ru/ppc/viridiplantae/. Кластеризация охватывает 3107 белков, из которых сформированы 204 одноэлементных кластера и 173 кластера, включающих более одного белка; среди них 103 содержат не более одного белка из каждого вида, 67 содержат пары белков из одного и того же вида, три кластера содержит по три белка из одного и того же вида. База данных позволила сделать ряд существенно новых биологических выводов. В том числе, на ее основе найдены семейства белков, специфичные для узких таксономических групп. Например, для Chaetophorales имеется ровно одно такое семейство, вероятно, связанных с делением пластид; для других таксономических групп того же уровня из Chlorophyta таких семейств не найдено. Это показывает значительную близость пластомов внутри этой группы Chlorophyta по сравнению с красными водорослями. Другой пример. Всего 29 семейств белков имеют пред-

ставителей в обоих видах E. longa и E. gracilis, 16 семейств содержат белок из E. longa, но не содержат белка из E. gracilis, а 38 семейств содержат белок из E. gracilis, но не содержат белка из E. longa. Наиболее часто белки пластома E. longa, отсутствующие в E. gracilis, имеют гомологи у водорослей Chlorella vulgaris и Leptosira terrestris из класса Trebouxiophyceae. Отсюда можно заключить, что донором пластид у E. longa и E. gracilis служит класс Trebouxiophyceae. Это согласуется с высокой частотой вхождения водорослей именно этого класса в состав симбиотических сообществ, включая лишайники и некоторые простейшие.

PROTEIN FAMILIES IN PLASTOMES OF PLANTS AND GREEN ALGAE

Luybetsky V.A., Seliverstov A.V., Zverkov O.A.
Institute for Information Transmission Problems, Russian Academy of Sciences
Bolshoy Karetniy lane 19/1, 127994 Moscow, Russia

An representative database is constructed that contains protein families from early diverging Viridiplantae and lineages that acquired related plastids through endosymbiosis, *Euglena gracilis, E. longa* (Euglenozoa), and *Bigelowiella natans* (Rhizaria). The database is built with an originally developed clustering algorithm. The database and the algorithm that implements clustering along a protein phylogenetic profile and other search and analytic functionality are available at http://lab6.iitp.ru/ppc/viridiplantae. The total of 3107 proteins are clustered in 204 singlet and 173 non-singlet clusters; 103 clusters do not contain paralogs from the same species, 67 contain pairs of paralogs, and three clusters contain three paralogs. Analysis of the database enabled some essential biological inferences. Thus, we identified protein families specific for narrow taxonomic lineages. E.g., the Chaetophorales contain a single such family probably involved in the plastid division, while none was identified in other chlorophyte lineages of similar rank. This observation suggests the phylogenetic relatedness of plastids in Chlorophyta compared to those in red algae. Only 29 families occur in plastomes of both *E. longa* and *E. gracilis*, 16 are restricted to *E. longa*, 38 – to *E. gracilis*. The majority of protein families common for *E. longa* and *E. gracilis*, and families restricted to *E. longa* have homologs in the algae *Chlorella vulgaris* and *Leptosira terrestris* from the class Trebouxiophyceae. Most families restricted to *E. gracilis* are highly conserved. This observation suggests that the Trebouxiophyceae are evolutionary donors of plastids in *E. longa* and *E. gracilis*, which is in concordance with a wide occurrence of this taxonomic lineage of algae in various symbiotic communities, including lichens and some protists.

КОРРЕЛЯЦИЯ СВОЙСТВ ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ПРОМОТОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ И КОДИРУЮЩИХ ЧАСТЕЙ ГЕНОВ НЕКОТОРЫХ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ

Матушкин Ю.Г., Орлов Ю.Л., Лихошвай В.А., Левицкий В.Г..
Институт цитологии и генетики СО РАН,
630090, Новосибирск, пр. Лаврентьева 10

В работе [1] был предложен индекс эффективности элонгации трансляции (Elongation efficiency index – EEI), позволяющий адекватно оценивать эффективность экспрессии генов в одноклеточных организмах на основе нуклеотидного контекста кодирующей части генов. Мы проанализировали связь между EEI и профилем формирования нуклеосом в промоторных районах на выборке генов двух видов дрожжей. Теоретические оценки потенциала формирования нуклеосом (NFP) были получены с помощью метода Recon. Экспериментальная оценка расположения нуклеосом была получена из данных по высокопроизводительному секвениро-

ванию нуклеосомной ДНК в *S.cerevisiae*. Вычислялся коэффициент корреляции между двумя векторами: вектор значений NFP для определенной позиции фазированных относительно старта трансляции (AUG) всех последовательностей и вектор значений EEI для всех последовательностей. Профили коэффициентов корреляции между NFP и EEI были получены для (-600; +600) участков, относительно старта трансляции экстрагированных из GenBank последовательностей генов. Для *S.pombe*: для всех генов и для 10% высокоэкспрессирующихся генов (10% of EEI-highest genes) мы нашли участки негативной зависимости между NFP и EEI. Для *S.cerevisiae*: для всех генов и для низкоэкспрессирующихся генов (10% of EEI-lowest genes) мы нашли участки позитивной зависимости между NFP и EEI. Выявленная зависимость между NFP и EEI может быть объяснена отбором в процессе эволюции контекстных характеристик последовательностей направленным на оптимизацию экспрессии генов. В высокоэкспрессирующихся последовательностях (high EEI) инициация транскрипции должна быть облегчена, следовательно нуклеосомная упаковка в промоторной области не должна быть слишком плотной. Для низкоэкспрессирующихся последовательностей – наоборот.

1. Н.В. Владимиров, В.А. Лихошвай, Ю.Г. Матушкин. Корреляция частот кодонов и потенциальных вторичных структур с эффективностью трансляции мРНК в одноклеточных организмах Молекулярная биология, 2007, Т. 41, № 5, с. 843–850

2. Levitsky V.G.RECON: a program for prediction of nucleosome formation potential. Nucl. Acids. Res., 2004, 32, 346-349

CORRELATION BETWEEN SOME PROPERTIES OF THE PRIMARY STRUCTURE OF PROMOTER REGIONS AND GENE CODING SEQUENCES FOR SOME UNICELLULAR ORGANISMS

Matushkin Yu.G., Orlov Yu.L., Likhoshvai V.A., Levitsky V.G.
Institute of Cytology and Genetics SB RAS,
630090, Novosibirsk, Lavrentiev ave.10

Elongation Efficiency Index (EEI) was suggested earlier in [1] to estimate gene expression efficiency by nucleotide context of coding sequence in unicellular organisms. We have analyzed association between EEI and nucleosome formation profile in gene promoter regions using gene samples from 2 yeast species. Theoretical estimations of nucleosome formation potential (NFP) based on DNA sequence were obtained by Recon method [2]. Experimental estimation of nucleosome occupancy was obtained by high-throughput sequencing data of nucleosomal DNA in *S.cerevisiae*. Correlation coefficient was calculated between two vectors: vector of NFP value for fixed genomic position phased relative to the translation starts (AUG) and vector of EEI values for all genes. Profiles of correlation coefficients of NFP and EEI were counted in (-600; +600) regions relative to the translation start for gene sequences extracted from GenBank. We found regions of strong negative dependence between NFP and EEI for all genes as well as for 10% highly expressed genes in *S.pombe* (10% of EEI-highest genes). At the same time we found positive dependence between NFP and EEI for all genes and for low expressed genes in *S.cerevisiae* (10% of EEI-lowest genes). The association between NFP and EEI could be explained by evolutionary selection of context characteristics of nucleotide sequences for gene expression optimization. Transcription initiation in highly expressed genes (high EEI) should be facilitated, hence nucleosome packing should not be too dense, and vice versa for low expressed genes.

1. N.V. Vladimirov, V.A. Likhoshvai, Yu.G. Matushkin, 2007. Correlation of Codon Biases and Potential Secondary Structures with mRNA Translation Efficiency in Unicellular Organisms, published in Molekulyarnaya Biologiya, 2007, Vol. 41, No. 5, pp. 926–933.

2. Levitsky V.G.RECON: a program for prediction of nucleosome formation potential. Nucl. Acids. Res., 2004, 32, 346-349

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АУКСИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ САЙТОВ В ГЕНОМЕ *ARABIDOPSISTHALIANAL*

Миронова В.В.[1,2]**,Омельянчук Н.А.**[1]**, Левицкий В.Г.**[1,2]**,**
[1]*Институт цитологии и генетики СО РАН,*
г. Новосибирск, пр. Лаврентьева 10, 630090, Россия
[2]*Новосибирский государственный университет,*
г. Новосибирск, ул. Пирогова 2, 630090, Россия

Фитогормон ауксин является основным регулятором роста и развития растений. Транскрипционные факторы семейства ARF обеспечивают ауксин-зависимую регуляцию экспрессии генов. Показано [1], что ARF специфически связываются с ауксин-чувствительными элементами (AuxREs) с консенсусом TGTCTC. Так как такая последовательность встречается в 79,5% промоторовгенов *A. thaliana*, необходимо найти дополнительные особенности AuxRE для их эффективного распознавания.

В данной работе с помощью программы поиска мотивов OliGA [2] проведен биоинформатический анализ ближайшего окружения экспериментально-подтвержденных AuxREсайтов и выявлены несколько олигонуклеотидных вырожденных мотивов длиной 10 п.н., обогащенных во фланкирующих районах AuxRE. Среди этих мотивов есть как AuxRE-подобные, так и не имеющие сходства с последовательностью TGTCTC. Созданная весовая матрицаAuxRE[3] и ряд сопровождающих его мотивов и использованы для полногеномного распознавания AuxRE. Данные о функциональности потенциальных AuxREтестировались на двух выборках ауксин-регулируемых генов и результатах нескольких микроаррэй экспериментов.

В результате работы показано, что плотность распределения потенциальных AuxRE в проксимальном промоторе (-300; +1) относительно старта транскрипции в 2 раза превышает плотность AuxREв районе (-2000; -300). Выявлены особенности совместного расположения AuxRE мотивов относительно друг друга и относительно сопровождающих их элементов.

1. T.J.Guilfoyle and G. Hagen (2007) CurrOpin Plant Biol2007, 10:453–460.
2. V.G. Levitsky, etal., (2011) DoklBiochemBiophys 436, 12-15.
3. V.G. Levitsky, et al., (2007) *BMC Bioinformatics,*8:481

*Благодарности:*Работа поддержана грантами РФФИ 11-04-01254-а, 12-04-33112-мол-а-вед, НШ-5278.2012.4, Программой РАН 6.8.

DISTRIBUTION OF AUXIN RESPONSIVE ELEMENTS IN *ARABIDOPSIS THALIANA L.*GENOME

Mironova V.V.[1,2]**, Omelyanchuk N.A.**[1]**, Levitsky V.G.**[1,2]**,**
[1]*Institute of Cytology and Genetics SB RAS,*
Novosibirsk, Lavrentiev Ave 10, 630090, Russia
[2]*Novosibirsk State University,*
Novosibirsk, ul.Pirogov 2, 630090, Russia

Phytohormoneauxin is a key regulator of plant growth and development. Transcription factors of ARF family mediateauxin-induced gene expression. ARFs specifically bind to auxin-responsive elements (AuxREs) with the consensus TGTCTC [1]. Since the sequences with this consensus are found

in promoters of 79.5% of arabidopsis genes, it is necessary to revealadditional AuxRE features for their effective recognition.

We performedsequence analysis of the flanking sequencesof experimentally-confirmed AuxRE sites using OliGAsoftware for motif search [2].Several degenerated 10 nucleotides longmotifs enriched in the AuxREneighborhood were identified.Among themthere are bothAuxRE-like motifs and the sequenceshaving no similarity to TGTCTC. AuxREposition weight matrix constructed as described in [3] altogether with the consensuses for theflanking motives were used for AuxRErecognition in *A. thaliana*genome. Data on functionality of the potential AuxREswere tested on two sets of promoter sequences from auxin-regulated genes and the data on several microarray experiments.

The density of potential AuxREin the proximal promoter (-300 to +1) relative to transcription start site nearly twofold exceeded that for the (-2000, -300) region. The features of AuxREsco-localization relative to each other as well as to flanking motifs were also identified and discussed.

1. T.J. Guilfoyle and G. Hagen (2007) CurrOpin Plant Biol 2007, 10:453–460.
2. V.G. Levitsky, et al., (2011) DoklBiochemBiophys 436, 12-15.
3. V.G. Levitsky, et al., (2007) *BMC Bioinformatics,* **8:**481

Acknowledgments: This work was supported by RFBR 11-04-01254-a, 12-04-33112, SS-5278.2012.4, RAS Program 6.8.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЫСОКОСПЕЦИФИЧНОГО УЗНАВАНИЯ В МОНООКСИГЕНАЗНЫХ СИСТЕМАХ

Муха Д. В.[1], **Диченко Я. В., Бритиков В. В., Янцевич А. В., Гилеп А. А., Усанов С. А.**
Институт биоорганической химии НАН Беларуси
ул. Купревича 5/2, 220141, Минск, Беларусь, [1]*e-mail: dmitry.mukha@iboch.bas-net.by*

Цитохромы P450 представляют собой одну из важнейших групп мишеней для направленного действия лекарственных препаратов. Среди назначаемых противогрибковых соединений, более 80% пациент-дней занимают азольные соединения.

Использование методов структурной биологии позволяет вести направленноеконструирование химических соединений, проявляющих высокую специфичность связывания с мишенью и блокирующих ее наиболее консервативную часть. Разработка новых средств борьбы с грибковыми инфекциями представляет собой чрезвычайно важную задачу, выполнение которой приведет к созданию альтернативы в выборе химиотерапевтических средств и минимизации побочных эффектов. Сравнительный анализ ортологов, принадлежащих семействуCYP51,свидетельствует, что геометрическая форма активного центра в ряду гомологов в достаточной степени различается, чтобы сформировать центр селективного связывания. В ряде ферментов патогенов имеются дополнительные каналы доступа субстратов в активный центр.

Нами установлено, что мутации CYP7B1, приводящие к спастической параплегии типа 5, затрагивают инвариантные и консервативные аминокислотные остатки. В результате пространственного моделирования взаимодействия фермента с субстратами установлены аминокислотные остатки, участвующие в образовании межмолекулярных связей. Для подтверждения обнаруженных свойств в результате направленного мутагенеза получены рекомбинантные мутантные формы CYP7B1 человека.

С помощью программы MacroDox проведено компьютерное моделирование кинетики комплексообразования между компонентом монооксигеназной ферментной системы микросом, цитохромомb_5, и цитохромомP450 3A4 человека. Установлено, что цитохром b_5формирует контакты вблизи проксимальной стороны гема цитохрома P450 3A4, хотя его положение не является константным (разброс 14 Å), что позволяет выделить две области повешенной плотности

размещения центров масс. Рассчитанное расстояние указывает на возможность непосредственного туннелирования электрона между двумя белками.

С использованием моделирования молекулярной динамики,нами разработаны методы определения энергии связывания и спектроскопические подходы для изучения межмолекулярного взаимодействия потенциальных антифунгальных соединений с их молекулярными мишенями. Разработанные методы комбинаторной химии позволили идентифицировать структурные участки, детерминирующие специфичность взаимодействия низкомолекулярных ингибиторов с ферментами-мишенями, и таким образом, представляют собой инструмент создания новых лекарственных соединений.

MOLECULAR MECHANISMS OF HIGHLY SPECIFIC RECOGNITION IN MONOOXYGENASE SYSTEMS

Mukha D. V.[1], **Dichenko Y. V., Britikov V. V., Yantsevich A. V., Gilep A. A., Usanov S. A.**
Institute of Bioorganic Chemistry NAS of Belarus
Kuprevich Str. 5/2, 220141, Minsk, Belarus, [1]*e-mail: dmitry.mukha@iboch.bas-net.by*

Cytochromes P450 belong to one of most important groups of drug design targets. Among the prescribedanti-fungal compounds, morethan 80% of patient-day scorrespond to azolecompounds

Accumulated data in structural biology lead to the rational strategy of design of chemical compounds that exhibit high specificity of binding to targets and the ability to block the most spatially conservative parts of proteins. It is extremely important to develop new drug compounds to fight with fungal infections that would lead to creation of alternative choice for chemotherapy and minimization of side effects.

Comparative analysis of the CYP51' structures showы that the geometric shape of the active site in a series of homologues varies enough creating specific centers of selective binding. Number of enzymes of pathogens possesses additional channel sforaccess of substrates to the active center.

Wehave shown, that mutation so fCYP7B1 leading to spastic paraplegia type 5 affect invariant and conservative amino acid residues.Bymeans of spatialmodelingof interaction between the enzyme and substrates we determined amino acids that take part in intermolecular bonding. Inordertoconfirm discoveredfeatures,weused site-specific mutagenesis and made recombinant forms of mutant human CYP7B1.

By means of MacroDoxprogram we modeled kinetic properties of reaction of complex formation between cytochrome b_5 which is a component of monooxygenase enzymatic system of microsomes and human cytochrome P450 3A4. It was shown that cytochrome b_5 makes contactswith proximal side of cytochrome P450 3A4, but its position is not constant, having range up to 14 Å from mass average center. Inadditionitcanbe distinguished the presence of 2 areas of higher density of cytochrome b_5 centers of mass. Thelengthwegainedshows the possibility of direct tunneling of an electron from cytochrome b5 to cytochrome P450.

We have developed new methods for determination of binding energies using molecular dynamics simulation, as well as spectroscopic approaches to study the molecular interaction between potential antifungal compounds and their molecular targets.Combinatorial chemistry methods allow us identifying structural areas that determine the specificity of the interaction between low molecular weight inhibitors and target enzymes, and accordingly, they serve as advanced tools in rational drug design.

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ НА КОНФОРМАЦИОННУЮ ПОДВИЖНОСТЬ РОДОПСИН-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ И СТРУКТУРНОЙ БИОИНФОРМАТИКИ

Новиков Г.В.[1],
аспирант, старший инженер-исследователь, без ученой степени.
Сивожелезов В.С.[1],
ведущий научный сотрудник, доктор биологических наук.
Шайтан К.В.[2],
профессор, доктор физико-математических наук.
[1]*Институт биофизики клетки РАН, 142290 Пущино Московской обл., Институтская, 3;*
[2]*Биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова;*
факс: (4967)330-509, электронная почта: gnovikov87@gmail.com

Семи-трансмембранные рецепторы играют первостепенную роль в межклеточных коммуникациях, автокринных и паракринных регуляциях клеточных функций и других ключевых физиологических процессах. По современным оценкам, как минимум половина известных лекарственных препаратов являются лигандами этих белков. Тем не менее, в существующих представлениях об активации мембранных рецепторов все еще много неясного. За последние несколько лет методом рентген-кристаллографии было показано, что переход родопсин-подобных рецепторов в активное под-состояние связан с конформационными изменениями в их альфа-спиральном сегменте. Наряду с этим, одним из ключевых функциональных свойств лиганд-активируемых рецепторов является возможность их спонтанной (лиганд-независимой) активации. Явление подобной конститутивной активности свидетельствует о том, что связывание полных-агонистов не является необходимым условием, для активации родопсин-подобных рецепторов. В этой связи, необходимо ясное понимание того, какие именно конформации рецептора соответствуют его истинно активному состоянию, и каким именно путем в конформационом пространстве движется рецептор, для его достижения.

Согласно современным представлениям, структурная подвижность белка образно представляется как перебор между его структурно-близкими под-состояниями (конформерами). При этом, любое внешнее воздействие (например, связывание лигандов, изменение концентрации электролитов, либо же введение мутаций) смещает исходное равновесие, стабилизируя определенную конформацию белка в нативном ансамбле его структур. В настоящей работе, на примере бета-2-адренорецептора исследовалось влияние связывания различных лигандов, а так же введения точечных мутаций, на особенности активации этого белка. Методами молекулярной динамики и структурной биоинформатики было показано, что образование комплекса рецептора с полными агонистами, смещает его физико-химическое равновесие, по направлению к активному под-состоянию. С другой стороны, связывание обратных агонистов, напротив, преимущественно стабилизирует рецептор в области неактивных конформаций, значительно снижая степень его спонтанной активности. Схожие закономерности наблюдались так же при введении различных мутаций в аминокислотную последовательность апо-рецептора. Наконец, при анализе траекторий молекулярной динамики были выявлены ключевые структурные особенности, ответственные за стабилизацию функционально-значимых конформаций рецептора. Полученные результаты помимо фундаментальной значимости обладают так же прикладным значением, в области разработки новых лекарственных препаратов.

INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF THE EXTERNAL FACTORS ON THE CONFORMATIONAL DYNAMICS OF THE RHODOPSIN-LIKE RECEPTORS BY MEANS OF MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION AND STRUCTURAL BIOINFORMATICS

G.V.Novikov, V.S. Sivozhelezov and K.V. Shaitan
[1]*Institute of Cell Biophisics, RAS*
[2]*Lomonosov Moscow State University, Faculty of Biology*

Seven-transmembrane receptors play critical roles in cell-cell communication, autocrine and paracrine regulation of cell function, and other key physiological processes. According to current estimates, at least half of the known drugs are ligands of these proteins. However, the present concepts of activation of these proteins are not yet sufficiently clear. Over the past few years, X-ray crystallography showed that the transition of rhodopsin-like receptors into the active sub-state is related to conformational changes in the alpha-helical segment of the protein. Along with this, one of the key functional properties of ligand-activated receptors is their spontaneous (ligand-independent) activation. Such constitutive activity suggests that the binding of full-agonist is not necessary to activate the rhodopsin-like receptors. In this regard, a clear understanding is needed of what receptor conformation matches its truly active state, and how it is achieved by 'moving' the receptor within its conformational space.

According to modern concepts, structural mobility of the proteins is envisaged as motion between its similar structural sub-states (conformers). In this case, any external influence (such as ligand binding, changes in the concentration of electrolytes, or mutations) shifts the starting balance and stabilizes a certain conformation of the protein in the native ensemble of its conformations. In this study, the influence of the binding of different ligands, as well as the introduction of point mutations, to the activation of such protein exemplified by beta-2-adrenoceptor. Molecular dynamics simulation and structural bioinformatics have shown that during formation of a complex with the receptor full agonists commonly shifts its physicochemical equilibrium towards the active sub-state. In contrast, the binding of inverse agonists, mainly stabilizes the receptor in the inactive conformation, greatly reducing the degree of spontaneous activity. Similar patterns were also observed with the introduction of different mutations in the amino acid sequence of apo-receptor. Finally, the analysis of molecular dynamics trajectories identified key structural features responsible for the stabilization of functionally significant receptor conformations. The results are of fundamental importance, and have the same practical value as well, for the development of new drugs.

КОМПЬЮТЕРНАЯ ОЦЕНКА ПЛЕЙОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВ

Лагунин А.А.[1], Погодин П.В.[2], Шатинина С.З.[2], Поройков В.В.[1,2]
[1]*Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН,*
11921, Москва, ул. Погодинская, 10/7
[2]*Российский национальный исследовательский медицинский университет*
имени Н.И. Пирогова Минздрава России,
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1

Изучение активности многих эффективных лекарств выявило их влияние на несколько мишеней, а определение механизмов патогенеза ряда социально-значимых заболеваний привело к осознанию необходимости разработки лекарственных препаратов плейотропного действия. Мы разработали и провели апробацию методологию компьютерной оценки плейотропного действия биологически активных веществ на основе анализа зависимостей «структура-активность» и «активность-активность». Прогноз спектра биологической активности (БА) химических со-

единений (ХС) на основе их структурной формулы осуществляется с помощью компьютерной программы PASS [1]. Компьютерная программа PharmaExpert [2], обеспечивающая анализ результатов прогноза PASS на основе базы знаний о взаимосвязях "механизм-эффект", позволяет оценивать возможное плейотропное действие ХС. Апробация методологии позволила выявить: анксиолитики, ноотропные и противосудорожные соединения, принадлежащие к новым химическим классам; новые двойные ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента/нейтральной эндопептидазы и липоксигеназы/циклооксигеназы 1; ноотропный эффект у периндоприла, квинаприла и моноприла; предпочтительные комбинации среди антигипертензивных препаратов разных классов; компоненты экстрактов зверобоя, потенциально ответственные за проявление БА и межлекарственные взаимодействия. Продемонстрировано, что разработанная методология существенно эффективнее традиционных компьютерных методов виртуального скрининга.

1. Lagunin A., et al. *Bioinformatics*, 2000, **16** (8), 747-748.
2. Lagunin A., et al. *Cur. Pharm. Design*, 2010, 16 (15), 1703-1717.

COMPUTER-AIDED ESTIMATION OF PLEIOTROPIC EFFECTS OF DRUGS

Lagunin A.A.[1], Pogodin P.V.[2], Shatinina S.Z.[2], Poroikov V.V.[1,2]
[1]*Institute of Biomedical Chemistry of Russian Academy of Medical Sciences, Pogodinskaya Str. 10/7, Moscow, Russia, 119121*
[1]*The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Ostrovitianov str. 1, Moscow, Russia, 117997*

The study of the activity of many effective drugs revealed their influence on several targets, and identifying the mechanisms of the pathogenesis of a number of social diseases led to the realization of the need to develop drugs with pleiotropic actions. We have developed and validated methodology for computational assessment of pleiotropic action of biologically active substances on the basis of the analysis of "structure-activity" and "active-active" relationships. Computer program PASS is used for prediction of biological activity spectrum of chemical compounds based on their structural formula [1]. Computer program PharmaExpert [2], which provides an analysis of PASS prediction results based on the knowledge of "mechanism-effect" relationships, is used to assess the potential pleiotropic actions of chemical compounds. In the case studies we identified: anxiolytics, anticonvulsants and nootropic compounds belonging to new chemical classes; new dual inhibitors of angiotensin-converting enzyme / neutral endopeptidase and lipoxygenase / cyclooxygenase 1; nootropic effect in perindopril, quinapril and monopril; preferred clinically relevant combinations of antihypertensive drugs of different classes; components of Hypericum extracts, potentially responsible for the manifestation of asthma and drug-drug interactions. It is shown that the developed methodology is significantly more effective than the traditional methods of virtual screening.

1. Lagunin A., et al. *Bioinformatics*, 2000, 16 (8), 747-748.
2. Lagunin A., et al. *Cur. Pharm. Design*, 2010, 16 (15), 1703-1717.

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ В КОНТЕКСТЕ БОЛЬШИХ НАБОРОВ КЛИНИЧЕСКИХ ДАННЫХ

Андрей Ржецкий
Чикагский Университет, Чикаго, США

Доклад будет посвящен описанию недавних результатов по моделированию генетики сложных фенотипов и подходам к сравнению математических моделей в контексте огромных наборов данных (описывающих миллионы пациентов).

COMPARISON OF GENETIC MODELS WITH RESPECT TO THEIR FIT TO VERY LARGE CLINICAL DATASETS

Andrey Rzhetsky
University of Chicago, Chicago, IL, USA

The talk will describe recent advances in genetic modeling of complex phenotypes and in fitting probabilistic genetic models to large datasets (describing millions of patients).

ИССЛЕДОВАНИЕ НУКЛЕОСОМ И ЭЛОНГАЦИОННЫХ КОМПЛЕКСОВ МЕТОДАМИ АТОМИСТИЧЕСКОГО КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ

Шайтан А.К., Армеев Г.А., Блинов В.Н., Севенюк А.А., Студитский В.М.
МГУ имени М.В. Ломоносова, биологический факультет,
119991, Россия, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 12

Формирование белками гистонами и участками молекулы ДНК компактных образований – нуклеосом (см. Рис. 1), способствует не только упаковке молекулы ДНК в ядре клетки, но и играет сложную роль в регуляции процессов транскрипции и экспрессии генов. Недавно было показано, что в умеренно транскрибируемом хроматине процесс синтеза молекулы РНК РНК-полимеразой II проходит без полного разматывания ДНК с нуклеосомы с сохранением большей части белков гистонов, которые несут на себе эпигенетический код [1]. В этой связи актуальным является понимание механизмов организации хроматина и транскрипции на молекулярном уровне, включая структурную организацию, динамику и конформационные переходы в молекулярных комплексах.

Используя методы атомистического молекулярного моделирования, методы молекулярной механики, динамики, докинга был решен ряд задач: 1) созданы модели комплекса РНКП II и нуклеосомы при прохождении РНКП через нуклеосомную часть ДНК, 2) изучена конформационная динамика свободных нуклеосом, 3) изучен процесс разворачивания ДНК при диссоциации H2A-H2B димера, получена структура гексасомы. Работа выполнена с использованием ресурсов суперкомпьютерного комплекса МГУ имени М.В. Ломоносова.

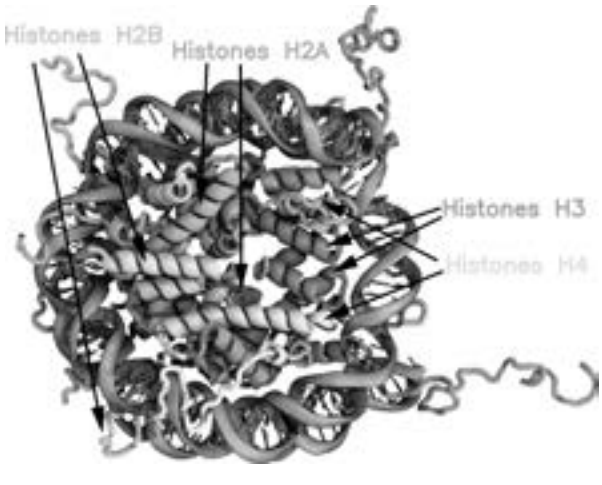


Рисунок 1. Молекулярная модель нуклеосомы: ДНК закручена вокруг 4 пар гистонов

[1] Kulaeva, O.I., et al., *Mechanism of chromatin remodeling and recovery during passage of RNA polymerase II.* Nat Struct Mol Biol, 2009. 16(12): p. 1272-8.

ATOMISTIC COMPUTER MODELING OF NUCLEOSOMES AND ELONGATION COMPLEXES

Shaytan A.K., Armeev G.A., Blinov V.N., Sevenyuk A.A., Studitsky V.M.
Moscow State Lomonosov University, Faculty of Biology,
119991, Russia, Moscow, Leninskie Gory, 1-12

Histone proteins together with stretches of DNA form compact protein-DNA complexes – nucleosomes (Fig. 1), which not only serve for packing of DNA in the nucleus, but also play complex role in transcription and regulation of gene expression. Recently, it was shown that in moderately transcribed chromatin RNA synthesis by RNA polymerase II does not require full DNA uncoiling from nucleosome and the majority of histones are left intact, thus preserving the position of epigenetic code [1]. In this regard understanding the molecular mechanisms of chromatin and transcription is of high importance, including unveiling its structural organization, dynamics and conformational transitions in involved molecular complexes.

Using the methods of atomistic molecular modeling including molecular mechanics, molecular dynamics, molecular docking, several problems were addressed: 1) we constructed molecular models of Pol II nucleosome complex during Pol II passage through the nucleosome part of the DNA, 2) studied the conformational dynamics of free nucleosomes, 3) analyzed the DNA uncoiling upon H2A-H2B displacement and obtained the model of hexasome structure. The reported study was supported by the Supercomputing Center of Lomonosov Moscow State University

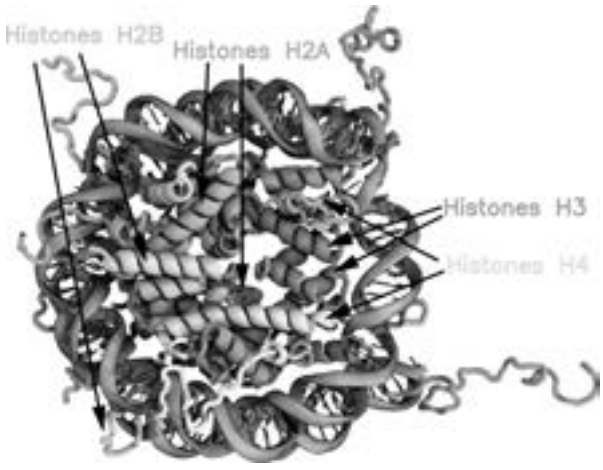


Figure 1. Molecular model of nucleosome: DNA wrapped around 4 histone dimers.

[1] Kulaeva, O.I., et al., *Mechanism of chromatin remodeling and recovery during passage of RNA polymerase II.* Nat Struct Mol Biol, 2009. 16(12): p. 1272-8.

БИОКНОЛ – СОЦИАЛЬНАЯ СЕТЬ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ

Шилов Б.В.[1], Корнюшко В.Ф.[2], Швец В.И.[2], Лисица А.В.[3], Евдокимов П.А.[4]
[1]*ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России,*
117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1;
[2]*ФГБОУ ВПО МИТХТ им. М.В. Ломоносова;*
[3]*ФГБУ «ИБМХ» РАМН;*
[4]*ООО «Технологии знаний»*

Эффективность работы отдельных ученых определяется их работой в контакте с коллегами, а также возможностью направлять ход исследования в соответствии с мировыми научными

трендами и парадигмами. Современное научное исследование опирается на детально проработанный обзор, основанный на анализе опубликованных научных данных. При этом нужно отметить, что объем информации, хранящейся в публичных базах, накопленный на сегодняшний день и ежедневно пополняемый, значительно превышает возможности качественного (адекватного) анализа и не гарантирует полного рассмотрения предметной области. Повышению степени охвата научной проблемы способствует взаимодействие между учеными, построенное на основе социальной сети.

Принцип построения социальной сети на основе публикаций используется в некоторых информационных системах, специализирующихся на биомедицинских исследованиях, таких как BioMedExperts (http://www.biumedexperts.com/) или Mendeley (http://www.mcndeley.com/).

В нашем проекте BioKnol (http://www.bioknol.org) предложена реализация социальной сети на основе обмена ссылками и комментариями на научные статьи. Источником информации служит популярная в области молекулярной биологии электронная библиотека PubMed. При необходимости можно подключить нужные для работы дополнительные источники данных, такие как UniProt, KEGG, OMIM, 1000 Genomes.

Для участия в проекте необходимо установить плагин для браузера и зарегистрироваться. После этого при поиске в базах данных все просмотры публикаций будут фиксироваться в ленте активности пользователя. Работая с лентой, пользователь может рекомендовать статьи своим коллегам и ознакомиться с поступившими рекомендациями. Отдельным преимуществом проекта BioKnol является возможность сотрудничества, основанного на совпадении индивидуальных научных интересов.

BIOKNOL – THE SOCIAL NETWORK FOR MOLECULAR BIOLOGISTS

Shilov B.V.[1], **Korniushko V.F.**[2], **Shvets V.I.**[2], **Lisitsa A.V.**[3], **Evdokimov P.A.**[4]

[1]*The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov (RNRMU), Ostrovitianov str. 1, Moscow, Russia, 117997;*

[2]*Lomonosov Moscow University of Fine Chemical Technology;*

[3]*Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry of the Russian Academy of Medical Sciences;*

[4]*Technology of knowledge Ltd.*

The effectiveness of a scientist is determined by their work in contact with colleagues, and the ability to direct the course of investigation in accordance with international scientific trends and paradigms. Modern scientific research is based on thoroughly researched review and based on the analysis of scientific data. It should be noted that the amount of information stored in public databases, accumulated to date and daily been enlarged, far exceed the capacity of qualified (adequate) analysis and does not guarantee full consideration of the subject area. Interaction between scientists is based on the social network facilitates to increase the coverage of scientific issues.

The principle of building a social networks on the basis of publications used in some information systems, specializing in biomedical research, such as BioMedExperts (http://www.biumedexperts.com/) or Mendeley (http://www.mendeley.com/).

In our project BioKnol (http://www.bioknol.org) was proposed the implementation of social network based on the exchange of links and commentary on the scientific articles. The source of information is popular in the field of molecular biology digital library PubMed. If necessary, you can connect the additional data sources, such as UniProt, KEGG, OMIM, 1000 Genomes.

To participate in the project, you have to install a browser plugin and register. After that, when you search a database of publications all views will be recorded in the user's activity feed. Working with

the tape, you can recommend articles to their colleagues and learn with the received recommendations. Specific project BioKnol advantage is the possibility of co-operation based on the identity of the individual research interests.

АВТОМАТИЗИРОВАННАЯ БИОМЕДИЦИНСКАЯ ИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМА ЧЕЛОВЕК-ГЕНОТИП-СРЕДА ОБИТАНИЯ-ФЕНОТИП

Шлихт А.Г., Краморенко Н.В.
Дальневосточный Федеральный Университет, Владивосток

В работе рассматривается созданная автоматизированная биомедицинская информационная система (АБИС), объединяющая структурированные, онтологически связанные данные и знания биомедицины, способная хранить и анализировать информацию, в различных ситуациях, осуществлять прогноз, а также поиск новых закономерностей в огромных массивах информации на основе технологии баз данных и знаний. АБИС автоматизирует мониторинг среды обитания и здоровья человека, финансово-хозяйственную и технологическую деятельность Центров гигиены и эпидемиологии (ЦГиЭ) по схеме единого окна всего жизненного цикла оказания работ и услуг. В состав АБИС входят подсистемы мониторинга: водных ресурсов, продуктов питания, почвы, воздуха, товаров народного потребления, физических факторов, смывов и стерильности. Мониторинг ведется на базе лабораторных исследований по физико-химическим, микробиологическим, паразитологическим, вирусологическим, и др. показателям, с выдачей единого протокола исследований. Подсистемы АБИС опираются на унифицированные кодированные справочники, согласованные с отечественными и международными классификаторами, по факторам, объектам, инструментальным исследованиям, ситуациям, что обеспечивает эффективную интеграцию и анализ данных.

Дальнейшим развитием АБИС стало создание подсистем хранения и анализа генетической информации, связанных с геномикой, протеомикой, метаболомикой, что позволило, интегрируя с вышеизложенными системами мониторинга среды обитания и здоровья человека, выйти на фенотип (задачи феномики). Созданы специальные промежуточные базы данных и знаний, которые, с одной стороны, используют конкретные высокоструктурированные данные, с оперативным анализом ситуации, а с другой стороны, посредством гиперссылок, выходят всемирные интернет ресурсы данные и знания. Такой подход позволяет получать и применять качественно новые знания и технологии, с учетом геном ориентированного уровня. Система функционирует на базе ЦГиЭ Приморского края, Россия. В докладе будет представлена работа системы в реальном времени.

AUTOMATED BIOMEDICAL INFORMATION SYSTEM MAN-GENOTYPE-PHENOTYPE-HABITAT

Shlikht A.G., Kramorenko N.V.
Far Eastern Federal University, Vladivostok

The paper considers the automated biomedical information systems(ABIS), structured, ontologically related data and knowledge of biomedicine, capable of storing and analyzing information, in different situations, to forecast, as well as search for new patterns in huge arrays of information based on database technology and knowledge. ABIS automates the monitoring of the environment and human health, financial and economic and technological activity Centers of hygiene and epidemiology (CGiE) single window to the whole life cycle of works and services. The ABIS consists of monitoring

sub-system: water, food, soil, air, consumer goods, physical factors, washouts and sterility. Monitoring is conducted on the basis of laboratory studies on physico-chemical, microbiological, virological, parazitological, etc. indicators, with a single protocol. ABIS subsystem based on standardized coded references, consistent with domestic and international factors, classifiers, instrumental studies, situations, ensuring the effective integration and analysis of data.

Further development of ABIS was the creation of storage subsystems and analyze genetic information related to genomics, metabolomics, proteomics, thus, integrating with the aforementioned systems of monitoring Habitat and human health, and get off at the phenotype (tasks phenomics). Created the special staging databases and knowledge which, on the one hand, highly structured data, using specific operational analysis of the situation and, on the other hand, through hyperlinks, go global online resources and expertise. This approach allows you to receive and utilize a qualitatively new knowledge and technology, with gene-centered level. The system is based on the CGiE of Primorskiy Kray, Russia.

The report will be submitted to the system in real time.

КОМПЬЮТЕРНОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЙ В БЕЛКАХ

Соболев Б.Н.[1], Веселовский А.В.[1], Коборова О.Н.[1], Погодин П.В.[2], Поройков В.В.[1,2]

[1]*Институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича РАМН, 11921, Москва, ул. Погодинская, 10/7*

[2]*Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1*

Посттрансляционные модификации (ПТМ) – ковалентные химические модификации белков, которые происходят после синтеза полипептидной цепи на рибосоме. Ферментативные реакции, приводящие к ПТМ, вовлечены в важные молекулярно-биологические процессы. Предсказание ПТМ по аминокислотным последовательностям белков широко используется при реконструкции сетей клеточной регуляции. Мы провели сравнительный анализ эффективности предсказательных методов на примере двух часто встречающихся типов модификации: фосфорилирования и ацетилирования. Программы, в которых используются мотивы, специфичные для сайтов модификации, предсказывают ПТМ с низкой специфичностью. Фильтрация результатов предсказания (с учетом белок-белковых взаимодействий или конформационной неупорядоченности) существенно повысила специфичность предсказания, но значительно снизила чувствительность. Низкая эффективность существующих методов связана с нечетким разграничением положительных и отрицательных примеров в обучающих выборках, неполнотой данных по белок-белковым взаимодействиям, недостаточной специфичностью мотивов. Точность предсказания ПТМ может быть увеличена за счет более адекватной группировки данных в обучающей выборке в соответствии со структурным сходством модифицирующих ферментов, использования новых форматов описания мотивов и привлечении заслуживающей доверия экспериментальной информации по межмолекулярным взаимодействиям.

Благодарности. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (соглашение № 8274).

COMPUTATIONAL PREDICTION OF POSTTRANSLATIONAL MODIFICATIONS IN PROTEINS

Sobolev B.N.[1], Veselosky A.V.[1], Koborova O.N.[1], Pogodin P.V.[2], Poroikov V.V.[1,2]
[1]*Institute of Biomedical Chemistry of Russian Academy of Medical Sciences, Pogodinskaya Str. 10/7, Moscow, Russia, 119121*
[1]*The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Ostrovitianov str. 1, Moscow, Russia, 117997*

Posttranslational modifications (PTM) are the covalent chemical alterations in proteins occurred after the polypeptide synthesis on the ribosome. Enzymatic reactions resulting in PTM are included into the most molecular biological processes. Prediction of PTM sites in amino acid sequences of proteins is widely applied for reconstruction of cellular regulatory networks. We performed the comparative analysis of the predictive programs for two frequently found PTM types: phosphorylation and acetylation. The programs used the motifs specific for modification sites showed the low prediction specificity. Filtration of prediction results (based on the protein-protein interaction or conformational disorders) significantly increases the specificity but strongly decreases the sensitivity.

Low efficiency of existing methods is caused by the ambiguous definition of the positive and negative examples in the training sets, incompleteness of data on protein-protein interactions, insufficient specificity of PTM site motifs. The prediction accuracy can be increased by the more adequate grouping of data in the training sets according to the structural similarity of modifying enzymes, usage of new formats for motif representation, and involving the confident data on inter-molecular interactions.

Acknowledgements. The was supported by the grant of Russian Ministry of Education and Science (Agreement No. 8274).

RULE-BASED МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ИНИЦИАЦИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ

Сорокин А.А.
Институт биофизики клетки РАН,
142290, Моск. обл., Пущино, ул.Институтская, 3

Считается, что хромосома *E. coli* содержит приблизительно пять тысяч промоторов, таким образом при длине хромосомы 4.6 млн. п.о. один промотор в среднем приходится на 900 пар оснований. Однако, в клетке в среднем всего 1500-11000 молекул РНК-полимеразы (РНКП) [1], которые могут неспецифически связываться с произвольной ДНК. Еще меньше в клетке сигма-субъединиц, которые необходимы только на этапе инициации транскрипции: 500 σ^{70}, 95 σ^{28} и 55 σ^{54} [2]. Таким образом, наблюдается, с одной стороны, заметный дефицит σ-субъединиц в клетке, а с другой высокая конкуренция между промоторами и непромоторными участками за связывание с РНКП. Для описания поведения такой системы методы классической химической кинетики не подходят и необходимо использовать методы стохастического моделирования.

Мы разработали модель инициации транскрипции в *E. coli*, используя так называемые методы моделирования в шаблонах (rule-based modelling) [3-4]. Анализ поведения модели при конкуренции как между различными промоторами, так и промоторов с непромоторной ДНК за связывание РНКП показало, что в зависимости от кинетических параметров и количества молекул РНКП в системе могут реализовываться различные сценарии, вплоть до полного доминирования только одного промотора.

Работа поддержана грантом РФФИ №11-04-01436-а.

Литература

1. Stefan Klumpp and Terence Hwa. Growth-rate-dependent partitioning of RNA polymerases in bacteria. // Proc Natl Acad Sci USA, 105(51):20245–20250, December 2008.
2. A Ishihama. Functional modulation of Escherichia coli RNA polymerase. // Annu Rev Microbiol, 54:499–518, 2000.
3. V Danos. Agile modelling of cellular signalling (invited paper). //Electronic Notes in Theoretical Computer Science, 229(4):3–10, 2009.
4. Joshua Colvinr, et al. RuleMonkey: software for stochastic simulation of rule-based models. // BMC Bioinformatics, 11(1):404, July 2010.

RULE-BASED MODELLING OF THE BACTERIAL TRANSCRIPTION INITIATION

Sorokin A.A.
Institute of Cell Biophysics RAS,
142290, Russia, Moscow region, Pushchino, Institutskaya str., 3

E. coli chromosome believed to encode about five thousands promoters, so it contains about one promoter per 900 b.p. At the same time in dependence of the life cycle stage number of RNA-polymerase (RNAP) molecules that can bind to arbitrary DNA site, but initiate transcription from promoters only, vary between 1500 and 11000 per bacterial cell [1]. σ-subunit, small polypeptide required by RNAP for promoter recognition and transcription initiation even more rare: there are 500 σ^{70}, 95 σ^{28} and 55 σ^{54} molecules per cell [2]. The standard methods of kinetic modelling are not applicable in this case because of low molecule copy number and high competition between various promoters and non-promoter sites for the binding with limiting number of enzymes.

We have developed *E. coli* transcription initiation model with rule-based approach [3-4]. Analysis of simulation results shows that various behaviour scenarios are possible. For example, one promoter could dominate the whole population and prevent synthesis from other promoters.

Work was supported by RFBR №11-04-01436-a.

References:

1. Stefan Klumpp and Terence Hwa. Growth-rate-dependent partitioning of RNA polymerases in bacteria. // Proc Natl Acad Sci USA, 105(51):20245–20250, December 2008.
2. A Ishihama. Functional modulation of Escherichia coli RNA polymerase. // Annu Rev Microbiol, 54:499–518, 2000.
3. V Danos. Agile modelling of cellular signalling (invited paper). //Electronic Notes in Theoretical Computer Science, 229(4):3–10, 2009.
4. Joshua Colvinr, et al. RuleMonkey: software for stochastic simulation of rule-based models. // BMC Bioinformatics, 11(1):404, July 2010.

ВОЗРОЖДЕННЫЙ АНАЛИЗ ФОСФОЛИПИДОВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ: ПРИМЕНЕНИЕ В МОНИТОРИНГЕ МИКРОБНЫХ ПРОЦЕССОВ

Иосиф Трегл[1], Павел Курань[1], Яна Павлоркова[1], Петра Земанкова[1], Мирослава Кисликова[1], Петр Котек[1], Гана Бурдова[1], Дагмар Гофманова[1], Ивана Иркова[1], Барбора Гонькова[1], Петра Данева[1], Вера Пилажова[1],Татьяна Бровдыова[1], Люцие Кржикланова[2]

[1]*Факультет окружающей среды Университета Яна Эвангелиста Пуркине в Усти над Лабем, Кралова Вышина 3132/7, 400 96 Усти над Лабем, Чешская Республика*

[2]*Факультет Механотроники, информатики и междисциплинарных исследований, Технический университет г. Либерец, Студентска 2, 461 17 г. Либерец, Чешская Республика*

Фосфолипиды являются ключевыми компонентами микробных оболочек. В связи с быстрым оборотом они разлагаются сразу же после гибели клеток, и концентрация фосфолипидов жирных кислот (PLFA) представляет собой количественный показатель содержания живой микробной биомассы. PLFA анализ – признанный инструмент в микробной таксономии, а также в микробной экологии почвы. В данной презентации представлены два мало известных способа применения анализа PLFA в области биотехнологий.

Первая часть презентации посвящена мониторингу процессов биоремедиации в сильно загрязненных почвах. Особое внимание в ней уделяется физиологическим показателям (*trans/cis* PLFA показателю общего стресса и *cy/pre* PLFA показателю недостатка элементов питания) и использованию результатов PLFA в качестве маркера улучшения качества почвы. Полезность такого подхода иллюстрируется реальными данными из различных населенных пунктов.

Вторая часть рассматривает количественное определение иммобилизованных (инкапсулированных) бактерий по содержанию PLFA. В матрице диоксида кремния, подготовленные золь-гель методом, содержание PLFA пропорционально начальной концентрации бактериальной биомассы. В долговременных экспериментах по денитрификации бактериями *Paracoccus denitrificans*, инкапсулированными в поливиниловом спирте, концентрации PLFA отображали специфическую активность денитрификации, что помогло, в частности, выявить причину частичного ингибирования процесса.

Работа выполнена при поддержке Министерства промышленности и торговли Чешской Республики (проект MPO FR-TI4/278) и Внутреннего Агентства университета Я.Э. Пуркине

PHOSPHOLIPID FATTY ACIDS ANALYSIS REVIVED: APPLICATIONS IN MONITORING OF MICROBIAL PROCESSES

Josef Trögl[1], Pavel Kuráň[1], Jana Pavlorková[1], Petra Zemánková[1], Miroslava Kysliková[1], Petr Kotek[1], Hana Burdová[1], Dagmar Hofmanová[1], Ivana Jirková[1], Barbora Hoňková[1], Petra Dáňová[1], Věra Pilařová[1], Taťjána Brovdyová[1], Lucie Křiklavová[2]

[1]*Faculty of Environment, Jan Evangelista Purkyně University in Ústí nad Labem, Králova Výšina 3132/7, 400 96 Ústí nad Labem, Czech Republic*

[2]*Faculty of Mechatronics, Informatics and Interdisciplinary Studies, Technical University of Liberec, Studentská 2, 461 17 Liberec, Czech Republic*

Phospholipids are key components of microbial membranes. Due to fast turnover they are rapidly degraded after cell death and concentration of phospholipid fatty acids (PLFA) provides a quantitative indicator of the living microbial biomass. PLFA analysis is an established tool in microbial taxonomy as well as in soil microbial ecology. In this presentation we would like to elaborate two less pronounced applications of PLFA analysis in biotechnology.

The first part is dedicated to monitoring of bioremediation processes in highly polluted soils. Special focus is given to physiological indicators (*trans/cis* PLFA indicator of general stress and *cy/pre* PLFA indicator of nutrient deprivation) and utilization of PLFA results as a marker of soil quality improvement. Brief theory will be accompanied by real data from different localities demonstrating usefulness of this approach.

The second part is focused on quantification of immobilized (encapsulated) bacteria via PLFA content. In a silica matrix prepared by sol-gel process concentrations of PLFA were proportional to input bacterial concentrations. In long-term denitrification experiments with *Paracoccus denitrificans* encapsulated in polyvinyl alcohol PLFA concentrations followed specific denitrification activities and enabled deciphering of partial inhibition of the process.

The work was supported by Ministry of Industry and Trade of the Czech Republic (project MPO FR–TI4/278) and Internal Grant Agency of J.E.Purkyně University.

КОМПЬЮТЕРНЫЕ БИОИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПОИСКЕ СЕЛЕКТИВНЫХ ЛИГАНДОВ

Васильев П.М.[1], **Спасов А.А.**[1], **Яковлев Д.С.**[1], **Мальцев Д.В.**[1], **Анисимова В.А.**[2]

[1]*Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, д. 1*

[2]*Научно-исследовательский институт физической и органической химии Южного федерального университета, 344090, г. Ростов-на-Дону, проспект Стачки, д. 194/2*

Направленный поиск новых фармакологически активных веществ, обладающих высокой селективностью в отношении определенного подтипа рецепторов, в сравнении с другими подтипами этих же рецепторов, позволяет создавать инновационные лекарственные препараты с максимальным уровнем основного терапевтического эффекта и минимальным побочным действием. Разработана биоинформационная технология компьютерной оценки сравнительной селективности новых химических соединений в отношении заданного подтипа биомишени на основе комплексного QSAR-анализа, включающего консенсусный подход к прогнозу. Расчетная оценка уровня активности лигандов в отношении нескольких подтипов рецепторов выполняется с помощью информационной технологии «Микрокосм» [1]. По результатам прогноза отбираются соединения, принадлежащие к классу высоко аффинных в отношении одного подтипа рецепторов и одновременно неактивные в отношении другого подтипа этого же рецептора. Разработанная технология была применена в направленном поиске среди производных конденсированных азолов лигандов, селективных к 5-HT_{2a}-рецепторам, в сравнении с 5-HT_4-рецепторами. В результате экспериментального изучения соединений, отобранных в процессе виртуального скрининга, были найдены новые селективные антагонисты 5-HT_{2a}-рецепторов.

Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2011618547 ИТ «Микрокосм» от 31.10.2011.

IN SILICO BIOINFORMATION TECHNOLOGY IN SEARCH FOR SELECTIVE LIGANDS

Vassiliev P.M.[1], **Spasov A.A.**[1], **Jakovlev D.S.**[1], **Maltsev D.V.**[1], **Anisimova V.A.**[2]
[1]*Volgograd State Medical University under Ministry for Health of Russian Federation, 1, Pavshikh Bortsov Square, Volgograd, 400131*
[2]*Research Institute for Physical and Organic Chemistry of South Federal University, 194/2, Stachki str., Rostov-on-Don, 344090*

Directed search for new pharmacologically active substances that are highly selective for a certain receptor subtype in comparison with other subtypes of the same receptor allows a development of novel drugs showing a maximum main therapeutic effect with minimum side effects. We developed a bioinformation technology for computerized evaluation of comparative selectivity of new chemical compounds for a desired biotarget subtype based on a complex QSAR analysis including a consensus approach to prediction. The estimated ligand activity to several receptor subtypes is analyzed with Microcosm IT [1]. Compounds with high affinity to one receptor subtype while inactive for another subtype of the same receptor are selected according to the prediction results. The developed technology was applied to a directed search among condensed azole derivatives of ligands selective for 5-HT_{2a}-receptors in comparison with 5-HT_4-receptors. As a result of an experimental study of the compounds chosen in the process of virtual screening we found new selective 5-HT_{2a}-receptor antagonists.

State Registration Certificate for Microcosm IT software # 2011618547 of 31.10.2011.

ПОСТРОЕНИЕ ГЕННОЙ РЕГУЛЯТОРНОЙ СЕТИ ПРОЦЕССА ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КАРДИОМИОЦИТОВ

Вингендер Едгар[1,2], **Бар Анирбан**[1], **Гауброк Мартин**[1], **Лии Джии** [1]
[1]*Dept. of Bioinformatics, University Medical Center Göttingen, Goldschmidtstr.1, D-37077 Göttingen, Germany*
[2]*geneXplain GmbH, Am Exer 10b, D-38302 Wolfenbüttel, Wolfenbüttel, Germany*

Наиболее интересные сайты связывания транскрипционных факторов (ССТФ) могут быть идентифицированы совместным применением двух методов, предсказание ССТФ и анализ консервативных районов при сравнении нескольких геномов. Мы продемонстрировали, что, основываясь на таких “якорных сайтах”, можно восстановить наиболее вероятные взаимодействия ТФ-мишень и, следовательно, устойчивые транскрипционные сети.

Мы применили недавно опубликованную полную классификацию транскрипционных факторов человека по структуре их ДНК-связывающих доменов (http://tfclass.bioinf.med.uni-goettingen.de/) для расширения идентифицированных взаимодействий ТФ-мишень для факторов – паралогов. Нам удалось показать, что такое “распространение на паралоги” создает основу для реконструкции ткане-специфичных транскрипционных сетей с интересными свойствами.

К восстановленным таким образом транскрипционным сетям добавлялся еще один ключевой компонент, микро-РНК, которые с одной стороны, выступают как регуляторы генов-мишеней (генов, кодирующих ТФ, и других генов), и с другой стороны, сами являются мишенями для транскрипционных факторов.Сравнение ткане-специфичных генных регуляторных сетей выявило набор различных тканей, проявляющих характерные свойства для отдельно взятой ткани ли для нескольких тканей.

Для применения полученных сетей к анализу временных серий генной экспрессии мы разработали новый трёх-кластерный алгоритм. Этот алгоритм позволяет идентифицировать к о-регулированные гены по их профилям экспрессии и по схожим"якорным сайтам". Мы применили трёх-кластерный алгоритм к профилям экспрессии стволовых клеток в ходе их дифференцировки в кардиомиоциты. Нам удалось выявить влияние нескольких Т-бокссодержащих факторов на определенные гены-мишени, которые можно отнести а различным путям генной регуляции, в том числе и не являющихся специфичными для кардиомиоцитов.

CONSTRUCTION OF GENE REGULATORY NETWORKS OF CARDIOMYOCYTE DIFFERENTIATION

Edgar Wingender[1,2], **Anirban Bhar**[1], **Martin Haubrock**[1], **Jie Lie**[1]
[1]*Dept. of Bioinformatics, University Medical Center Göttingen, Goldschmidtstr. 1, D-37077 Göttingen, Germany*
[2]*geneXplain GmbH, Am Exer 10b, D-38302 Wolfenbüttel, Wolfenbüttel, Germany*

Combining pattern-based transcription factor binding site (TFBS) prediction with a multi-genome conservativity analysis enables to identify a set of particularly relevant sites. We have demonstrated that from these so-called "seed sites", reliable TF-target interactions and, thus, robust transcriptional networks can be inferred. A recently published comprehensive classification of human TFs according to their DNA-binding domains (http://tfclass.bioinf.med.uni-goettingen.de/) was used to expand these predicted TF-target relations to paralogous TFs We could show that this "paralogous expansion" renders the transcriptional network a suitable basis for reconstructing tissue-specific transcription networks with interesting features.

The transcriptional networks thus constructed have been extended to gene regulatory networks by including micro-RNAs as another important player, both with regard to their targets (TF- and non-TF genes), as well as their own transcriptional regulation by TFs. Comparing the tissue-specific gene regulatory networks of a number of different tissues exhibited typical properties for individual and groups of tissues.

In order to apply our networks to the analysis of time-series gene expression data, we have developed a new triclustering algorithm (δ-TRIMAX), which identifies co-regulated genes according to similar expression profiles and common TFBS seed sites. Applying it to expression profiles of stem cells differentiating into cardiomyocytes we could clearly sort out the effects of different T-Box factors on distinct target genes assignable to different, but all cardiomyocyte-related pathways.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРОМОТОРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ *E.COLI*

Темлякова Е.А., Сорокин А.А.
Институт биофизики клетки РАН,
142290, Московская область, г.Пущино, ул.Институтская, д. 3

В данной работе представлена база данных, спроектированная для хранения профилей электростатического потенциала двойной спирали ДНК. Отличительным свойством предложенной базы данных является то, что весь профиль хранится как единый объект, который с точки зрения СУБД полностью подобен строке или числу. Такие объекты СУБД может сравнивать друг с другом и осуществлять быструю выборку на основании индексов [1]. В базу данных загружена информация о 1227 известных промоторах *E.coli* K12. Для каждого промотора сохранена нуклеотидная последовательность, а также вычислен и загружен в базу профиль электростатического потенциала промоторной ДНК. Кроме того, каждый промотор связан с генами, транскрипцию которых он регулирует, а также с записями о сайтах посадки транскрипционных факторов, влияющих на функционирование промотора.

Для повышения эффективности работы индекса проведен анализ значимости переменных (VIP-анализ) при помощи проекции на латентные структуры (PLS-DA) [2]. Для этого нами были построены 45 моделей, обученные разделять разные классы последовательностей *E.coli* K12. Модели одного типа различались между собой по соотношениям тренеровочной и тестовой части, а также по числу используемых для дискриминации переменных. Полученные результаты с сокращенным числом переменных позволят увеличить скорость поиска и эффективность хранения данных.

Также было показано, что на основе данных об электростатическом потенциале можно достаточно точно разделять классы промоторных и непромоторных последовательностей (точность порядка 75-85%).

Список использованных источников

1. A. Sorokin, G. Selkov, I. Goryanin, European Journal of Pharmaceutical Sciences 46, 272–274 (2012).
2. Sarker M., Rayens W. Partial least squares for discrimination/ J.Chemom., 2003, V.17, p.166

ANALYSIS OF ELECTROSTATIC PROPERTIES OF *E.COLI* PROMOTER REGIONS

Temlyakova E.A., Sorokin A.A.
Institute of Cell Biophysics RAS,
142290, Russia, Moscow region, Pushchino, Institutskaya str., 3

We present a database constructed for storage of DNA electrostatic potential profiles. Representation of the whole profile as a simgle object of specific data type is the of the database. Using indexes along this object type it is possible to compare the profiles with each other and choose ones with a behavior of interest [1]. The database contains the information about 1227 known promoters of *E.coli* K12. Each promoter is characterized by a nucleotide sequence, an electrostatic potential profile and the list of controlled genes. The information about transcription factors binding sites that can influence promoter activity are linked to the promoter record also.

To increase index accuracy and efficiency we have performed a variable analysis (VIP-analysis) by projections on latent structures (PLS-DA) [2]. We created 45 models trained to discriminate experimentally proved promoters from sequences of other classes. Models also varied in the proportion of training and testing sets and the number of variables. The accuracy for models ranged in 75-85%. It was also shown that it is possible to predict classes of promoter and non-promoter region based purely on characteristics of the electrostatic potential profile.

The VIP-analysis results with reduced number of variables were used for development of new indexing strategies for faster and more effective search, storage and retrieval of the data.

References

1. A. Sorokin, G. Selkov, I. Goryanin, European Journal of Pharmaceutical Sciences 46, 272–274 (2012).
2. Sarker M., Rayens W. Partial least squares for discrimination/ J.Chemom., 2003, V.17, p.166

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРОМЫШЛЕННОСТЬ»
SECTION "BIOTECHNOLOGY AND INDUSTRY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ НА КАЧЕСТВО ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Алексинцева О.А., Топкова О.В.
ГБОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия, СПб, ул. Профессора Попова, д. 14

Производство продуктов биосинтеза с помощью различных биообъектов требует использования чистой культуры продуцента и соблюдения асептических условий при их культивировании. Особое место в этом производстве занимает стерилизация питательных сред.

Режим стерилизации, с одной стороны, должен обеспечить гарантированную стерильность среды, с другой – обеспечить сохранение биологической ценности питательной среды.

В процессе термической стерилизации изменяются физико-химические свойства среды, ее консистенция, цвет, pH, снижается содержание сахаров, что обусловлено превращением компонентов среды под влиянием повышенной температуры. В результате таких превращений среда может приобретать стимулирующий или ингибирующий эффект на развитие продуцента и синтез им биологически активных веществ.

Потери сахаров и качество питательной среды в целом зависят от температуры и продолжительности стерилизации и от pH исходных растворов.

В работе исследовали изменение углеводного компонента питательной среды для биосинтеза леворина при различных условиях стерилизации, а также их влияние на биологическую активность продуцента и фильтрационные характеристики культуральной жидкости.

EFFECT OF STERILIZATION AT NUTRIENT MEDIAS.

Alexintseva O.A., Topkova O.V.
GBOU VPO St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical Academy, St. Petersburg, Professor Popov Street, 14

Manufacturing of biosynthesis products through various biological objects requires a pure culture of the producer and aseptic conditions during their incubation. A special place in this manufacturing is sterilization of culture media.

Sterilization mode, on the one hand, should provide a guaranteed sterile environment, on the other – to ensure the preservation of the biological value of the medium.

In the process of thermal sterilization altered physico-chemical properties of the medium, its texture, color, pH, sugar content is reduced, due to the transformation of the components of the medium under the influence of increased temperature. As a result of these transformations environment can acquire stimulating or inhibiting effect on the development of the producer and his synthesis of biologically active substances.

Loss of sugars and nutrient quality in general depend on the temperature and time of sterilization and the pH of the initial solutions.

At work was investigated the alteration of the carbohydrate component of the culture medium for the biosynthesis levorin under different conditions of sterilization, as well as their impact on the biological activity of the producer and filtration characteristics of the culture fluid.

ПРИМЕНЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ И БИОКОМПОНЕНТОВ ИЗ СОЛОДКИ ГОЛОЙ *GLYCYRRHIZA GLABRA*, ЦМИНА ПЕСЧАНОГО *HELICRYSUM ARENARIUM* И ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА МЕЛКОЦВЕТКОВОГО *ACHILLEA MICRANTHA* АРИДНОЙ ЗОНЫ

Астафьева О.В., Егоров М.А., Сухенко Л.Т.
ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный университет»,
Астрахань, 414000, пл. Шаумяна, 1

Актуальным направлением является использование препаратов или компонентов растительного происхождения вместо химических аналогов. Натуральные препараты из растений (лекарственные, косметологические и др.), как правило, действуют более медленно, мягко, не накапливаются в организме, не дают побочных эффектов, т.е. лишены именно тех недостатков, которые нередко наблюдаются у химически чистых веществ.

Оригинальность и новизна выделения и производства биологически активных экстрактов с противомикробными и фитонцидными свойствами из растений Астраханского региона заключается в том, что природные экологические условия: высокая инсоляция, высокая температура и низкая влажность способствуют формированию биологически активных веществ в повышенных концентрациях, что определяет противомикробную, бактерицидную, иммунопротективную, антиоксидантную активность растительных полученных экстрактов. В лаборатории биотехнологий Астраханского государственного университета и в Венецианском университете Ca' Foscari в течение нескольких лет были проведены совместные исследования противомикробных свойств и химического состава выделенных биологически активных компонентов и экстрактов корня солодки голой Glycyrrhiza glabra, соцветий цмина песчаного Helicrysum arenarium и тысячелистника мелкоцветкового Achillea micrantha. Определено, что используемые экстракты, в отличие от ряда антибиотиков, оказывают пролонгирующее противомикробное действие, что определяет возможность их использования в качестве противомикробных компонентов биопрепаратов. Так же были исследованы противотуберкулезные свойства экстракта солодки голой, который в настоящее время запатентован. Изучаемые экстракты используются также в качестве компонентов оригинальных фитокапель, а также фитобальзамов.

THE USE OF PLANT EXTRACTS AND BIOLOGICAL COMPONENTS FROM LICORICE *GLYCYRRHIZA GLABRA*, IMMORTELLE *HELICRYSUM ARENARIUM* AND YARROW *ACHILLEA MICRANTHA* FROM ARID ZONES

Astafyeva O.V., Egorov M.A., Sukhenko L.T.
Astrakhan State University,
Astrakhan, 414000, pl. Shaumyana, 1

The topical idea is to substitute chemical antimicrobial products for natural plant components. Natural products from plants (medicinal, cosmetic, etc.) tend to act more slowly, do not accumulate in the body, have no side effects, so natural products do not have the drawbacks that often occur in chemically pure substances.

The originality and novelty of the extraction and production of biologically active extracts with anti-microbial properties from Astrakhan region plants depends on natural environmental conditions of high insolation, high temperatures and low humidity that contribute to the formation of biologically active substances in high concentrations. It determines the antimicrobial, antibacterial, immunoprotective and the antioxidant activity of plant extracts. In the biotechnology laboratory at Astrakhan State University and University of Venice Ca 'Foscari for several years we carried out collaborative studies of antimicrobial properties and chemical composition of isolate biologically active compounds and extracts of root of licorice *Glycyrrhiza glabra*, inflorescence of immortelle *Helicrysum arenarium* and of yarrow *Achillea micrantha*.

Unlike a number of antibiotics, the used extracts are defined to have durable antimicrobial action, which determines the possibility of its use as antimicrobial components of biological products. Antituberculosis properties of licorice extract are also examined, and the extract has been already patented. The extracts under discussion are also used as components in the original phyto-drops and phyto-balms.

БИОТЕХНОЛОГИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ С ПОВЫШЕННОЙ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬЮ

Черенков Д.А.[1], Першина Е.В.[1], Кирьянова С.В.[1], Анненков В.А.[1], Кондратьев М.С.[2], Кабанов А.В.[2], Корнеева О.С.[1]

[1]*ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», 394036, Россия, г. Воронеж, проспект Революции, 19.*

[2]*Учреждение Российской Академии Наук «Институт Биофизики Клетки Российской Академии Наук», 142290, г.Пущино Московской области, ул. Институтская, 3.*

Разработка технологии получения промышленных ферментов, способных работать в широком диапазоне физико-химических условий является одной из актуальных проблем современной биотехнологии. Наиболее рациональным способом увеличения стабильности может стать модификация молекулы фермента без затрагивания его активного центра, приводящая к повышению устойчивости структуры молекулы. Это возможно при объединении усилий биоинформатики и молекулярной биологии, в частности с применением методов расчета молекулярной динамики и внесения точечных аминокислотных замен на основе полученных расчетных данных. Нами проводятся исследования, посвященные получению рекомбинантных ферментов с повышенной термостабильностью. В частности, получены расчетные данные по увеличению термостабильности молекулы липазы LipA из *B.Subtilis 168*, позволяющие определить круг аминокислотных замен, влияющих на стабильность структуры молекулы данного фермента. В настоящее время на базе Воронежского государственного университета инженерных технологий получена рекомбинантная липаза LipA а также β-маннаназа и α-L-фукозидаза и ведутся работы по определению стабильности их нативных и мутантных форм. Полученные результаты могут послужить основой для разработки нового способа повышения термостабильности белковых молекул, что сделает возможным получение препаратов ферментов и других биологически активных белков, способных функционировать в широком диапазоне условий длительное время.

BIOTECHNOLOGY OF RECOMBINANT THERMOSTABLE ENZYMES

Cherenkov D.A.[1], **Pershina E.V.**[1], **Kiryanova S.V.**[1], **Annenkov V.A.**[1], **Kondratiev M.S.**[2], **Kabanov A.V.**[2], **Korneeva O.S.**[1]
FSBEE HPE "Voronezh State University of Engineering Technology",
19, Revolution Avenue Voronezh 394036 Russia

Elaboration of industrial enzymes which could hold activity in extreme physical conditions is one of the important goals of modern biotechnology. The most appropriate and rational method is modification of enzyme structure leading to stabilization of molecule. This aim may be achieved by using molecular dynamics an bioengineering methods . The result of this process is entry point mutations in molecular structure of enzyme. Our laboratory is investigate the possibility of recombinant thermo stable enzymes creation. Particularly, we obtain theoretical data to modified lipase LipA from *B.Subtilis 168*, that allowing us to introduce amino acid changes in enzyme molecule. This time in Voronezh State University of Engineering Technology obtained recombinant Lipase LipA, β-mannanase and α-L-fucosidase, and realizing creation its thermo stable forms. Results of present investigation can become the basis of new method of protein structure stabilization witch make realizable obtaining new thermo stable forms of proteins.

ПРИМЕНЕНИЕ ГИБКОЙ СХЕМЫ СОРБЦИОННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ ФЕРМЕНТОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕГО СОЗДАНИЯ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ КОМПОЗИЦИЙ

Декунов С.С., Глазова Н.В., Серкова А.Н.
ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия»,
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14, лит.А

В настоящее время системная энзимотерапия (СЭТ) является одним из самых перспективных направлений в медицине. В России осуществляется крупномасштабное производство ферментов только из животного сырья на ООО «Самсон-Мед». Данное производство ограничено в ассортименте ферментов и их достаточно высокой стоимостью. На ООО «Самсон-Мед» в настоящее время внедрена разработанная совместно с сотрудниками кафедры биотехнологии ГБОУ ВПО СПХФА Минздрава России сорбционная технология выделения и очистки комплекса гидролитических ферментов из поджелудочной железы КРС. Возможность использования ферментов из более дешёвого растительного сырья ограничена отсутствием производственной базы и покупкой дорогостоящих зарубежных аналогов. Поэтому создание своей базы на основе существующих может быть перспективным. Преимуществом данной работы является не только подбор источников, но и использование эффективного сорбционно-хроматографического метода выделения и очистки ферментов из экстрактов; возможность реализации в крупномасштабном производстве при использовании гибкой схемы, т.е. на одних и тех же производственных мощностях получать несколько высокозначимых ферментов из растительного и животного сырья.

Нами разработана технология выделения экстракционным методом с последующим использованием разработанной сорбционной технологии очистки ферментов из растительного сырья: химозина (подмаренник настоящий), пероксидазы (плоды редьки чёрной) и лизоцима (корневища хрена). Авторами разработан феноменологический подход оптимизации получения каждого из перечисленных ферментов с использованием кинетико-динамического параметра (λ). Такой подход позволяет подобрать в конкретном случае оптимальные условия с последующим масштабированием процесса, используя программное обеспечение, специально разработанное на кафедре биотехнологии.

APPLICATION OF FLEXIBLE CIRCUIT OF SORPTION TECHNOLOGY FOR ISOLATION AND PURIFICATION OF ENZYMES FROM PLANT AND ANIMAL MATERIALS FOR THE CREATION OF BIOPHARMACEUTICAL COMPOSITION

Dekunov S.S., Glazova N.V., Serkova A.N.
Saint-Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy,
197376, Russia, St. Petersburg, ul. prof. Popov, 14

Currently systemic enzyme therapy (SET) is one of the most promising fields in medicine. In Russia a large-scale production of enzymes only from animal products is carried out at "Samson-Med". This production is limited in the range of enzymes and their relatively high cost. Sorption technology for isolation and purification of the complex of hydrolytic enzymes from the pancreas of cattle that was developed in conjunction with staff of the Department of Biotechnology of SPCPA is currently installed at «Samson-Med".

The possibility of using enzymes from cheaper plant raw materials is restricted by the lack of production facilities and the purchase of expensive foreign analogs. Therefore the creation of its production facilities on the base of existing can be perspective. The advantage of this work is not only the selection of sources, but also the use of effective sorption-chromatographic method of isolation and purification of the enzymes from the extracts, the ability to realize a large-scale production using flexible circuit, i.e., to receive several important enzymes from plant and animal materials on the same production facilities.

We have developed a technology of isolation by the extraction method using the developed sorbent technology purification of enzymes from plant material: chymosin (bedstraw real), peroxidase (fruits black radish) and lysozyme (horseradish root). The authors have developed a phenomenological approach for optimization each of the listed enzymes with the use of the kinetic-dynamic parameter (λ). This approach allows to choose in specific case the optimal conditions followed by scaling process by using specifically developed at the Department of Biotechnology software.

АППАРАТУРНОЕ ОФОРМЛЕНИЕ ПРОЦЕССА НАНЕСЕНИЯ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ НА ТВЕРДЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ

Флисюк Е.В.
ГБОУ СПХФА, 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14., flissiyk@mail.ru

В производстве таблеток нанесение покрытий является заключительной технологической операцией, поэтому качество выпускаемых таблеток во многом зависит от организации этого процесса.

В процессе нанесения покрытия на поверхности твердой лекарственной формы формируется оболочка из материала покрытия заданной толщины, которая и обеспечивает защитные или пролонгированные функции. Учитывая, что толщина оболочки влияет на распадаемость и время высвобождения действующего вещества, то очень важным является обеспечение равномерности покрытия – то есть равномерности распределения материала покрытия по поверхности всех твердых лекарственных форм в пределах одной технологической партии. На современном фармацевтическом предприятии для нанесения покрытия на таблетки используются аппараты псевдоожиженного слоя и обволакивающие установки барабанного типа, так называемые "coaters". В данной работе процесс нанесения покрытий на таблетки рассмотрен как сложный, комплексный процесс, сопровождающийся различными побочными явлениями. Сложность процесса нанесения покрытий состоит в том, что при протекании этого процесса возникают и такие побочные процессы, как истирание таблеток при прогреве слоя, образование дефектов

на поверхности в результате соударения и унос материала покрытия в течение процесса. Кроме того, нанесение покрытий на таблетки совмещается с процессом сушки и, следовательно, сопровождается внешним тепломассопереносом. Таким образом, для получения высокого качества покрытия таблеток и определения оптимальных технологических параметров этот процесс необходимо изучать в комплексе, как единую систему, с учетом всех сопутствующих явлений и конструктивных особенностей используемой аппаратуры.

В настоящей работе приведены результаты теоретического и экспериментального исследования нанесения пленочных покрытий на таблетки, как в аппаратах с псевдоожиженным слоем, так и в аппаратах барабанного типа.

HARDWARE REGISTRATION OF PROCESS OF DRAWING OF FILM COVERINGS ON FIRM MEDICINAL FORMS

Flisjuk E.V.
ГБОУ СПХФА,
197376, St.-Petersburg, street prof. Popova, 14., flissiyk@mail.ru

Coating is final technological operation in the manufacturing the tablets, therefore the quality of tablets in many respects depends on the organization of this process.

During this process on a surface of tablets thick coating is formed which provides the protective or prolonged functions. Considering that thickness of coating influences on the tablet disintegration and time of evaluation of active substance from the tablet the maintenance of uniformity of a covering (it means the uniformity of distribution of a material of a covering on a tablet surface within one technological batch) is very important. In the modern pharmaceutical industry such tablet coating devices as fluid bed and enveloping installations of drum-type type (so-called "coaters") are used. In this work the process of tablet coating is considered to be a complex process, accompanied by various by-effects. Complexity of process of tablet coating consists of the fact that there are also such collateral processes as tablet's abrasion at drying up of fluid bed, appearance of defects on a surface as a result of impact and ablation of a material of a covering during the process. Besides tablet coating is combined with the process of drying and, hence, is accompanied by external heat-mass transport. Thus, to obtain tablet coatings of high quality and the optimum technological parameters of this process it is necessary to study this process in the complex, as uniform system, in the view of all accompanying phenomena and design features of the used equipment.

In the present work the results of theoretical and experimental research of tablet coating process, both in fluid bed and drum-type devices are shown.

ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР

Каухова И.Е., Слепян Л.И., Громова О.Н., Басевич А.В., Пивоварова Н.В.
Кафедра промышленной технологии лекарственных препаратов
Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии,
г. Санкт-Петербург

В современной биотехнологии новые методы тесно переплетаются с традиционными биотехнологическими подходами. К числу последних относится поддержание существующих бан-

ков биологических материалов, в том числе штаммов лекарственных растений, позволяющих получать новые лекарственные препараты.

Штаммы культур клеток растений являются перспективной моделью живой системы, на которой можно создавать новые технологии культур клеток. Так впервые были получены линии женьшеня, которые содержали биологически активные вещества берёзы, солодки, календулы и исландского мха.

На основе штаммов разрабатываются новые технологии культивирования с учётом безопасной экологии, проводятся поисковые принципиально новые способы конструирования лекарственных средств (трансплантатов, плёнок, микрокапсул, биогелей) и препаратов с пролонгированным спектром действия. Выполняются исследования по изучению штаммов как динамической модели биосистемы для оценки воздействий факторов окружающей среды (света, радиации, магнитных полей и т.п.).

Штаммы длительно культивируемых invitro растительных клеток лекарственных растений могут быть также рассмотрены как модель живой системы для оценки экологической и медицинской безопасности при использовании различного наноматериала и, в частности, углеродных нанотрубок. Так, на модели штамма женьшеня изучено влияние УНТ на метаболизм основных действующих веществ. В настоящее время получен препарат из данной биомассы и проведены фармакологические испытания по оценке его безопасности.

Таким образом, штаммы культур растительных клеток являются перспективной моделью для отработки инновационных технологий в фармации.

INNOVATIVE TECHNOLOGIES OF THE DRUGS BASED ON PLANT TISSUE CULTURES

I.Y. Kaukhova, L.I. Slepyan, O.N. Gromova, A.V.Basevich, N.S.Pivovarova
St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy,
197022, Russia, St. Petersburg, Prof. Popovast., 14

Nowadays new methods in biotechnology are closely intertwined with traditional biotechnological approaches. The latest of them ismaintaining of existing biomaterialbanks, among them are strains of medicinal plants that give us the possibility to develop new drugs.

Strains of plant tissue culturesact as an advanced model of a living system upon which one can create new technologies of cell cultures. As such, cell lines of ginseng that produce biologically active substances of birch, liquorice, marigold and Iceland moss were obtained.

On the basis of the strains new technologies ofcultivatingin the context of ecological safety are worked out, brand new exploratory methods of drug design (as transplants, films, microcapsules, biogels)andsustained-release preparations are performed. Investigation of cell strains as a dynamical model of biosystem to assess environmental exposure (light, radiation, magnetic field etc.) is now in progress.

Strains of longtime cultivated *in vitro* medicinal plant tissue cultures can be considered as a model of a living system in order to assess ecological and medical safety of different nanomaterials and carbon nanotubes in particular. Thus, on a model of a ginseng strain we had studied the influence of carbon nanotubes on metabolism of main active substances. At the present time a drug based on this biomass is developed and safety pharmacology studies are performed.

Therefore, the strains of plant cell culturescan be an advanced modelfor fine-tuning technologies in pharmacy.

ТЕХНОЛОГИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЛЕКСНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ФУКУСОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

Облучинская Е.Д.
Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН,
183010, Мурманск, ул. Владимирская, 17, okaterine@yandex.ru

Фукусовые водоросли – перспективное сырье для получения биологически активных веществ (БАВ). Они содержат полисахариды (фукоидан, альгинаты), полифенолы, липиды и другие биологически активные компоненты. Спектр применения препаратов из фукусовых водорослей широк, и обусловлен их фитохимическим составом. В основном препараты из водорослей используются в лечебно-профилактической практике в виде нутрицевтиков.

Особый интерес из БАВ фукоидов вызывает полисахарид фукоидан (содержит более 50% фукозы). Фукоидан обладает иммуномодулирующим свойством, гепариноподобным действием, противовирусной и противомикробной активностью. Однако ни в нашей стране, ни за рубежом не создано лекарственных препаратов на основе фукоидана. Отсутствие научно обоснованной технологии фукоидансодержащих препаратов сдерживает внедрение этого ценного полисахарида в медицинскую практику.

Получение фукоидансодержащих экстрактов наиболее перспективно осуществлять в процессе комплексного использования водорослевого сырья. В ММБИ КНЦ РАН разработана и запатентована технология комплексной переработки фукусовых водорослей (Патент РФ № 2337571), одним из целевых продуктов которой является стандартизованный сухой экстракт фукуса (СЭФ). СЭФ представляет собой полисахаридно-полифенольный комплекс, содержащий фукоидан. Исследована иммуномодулирующая активность СЭФ, что позволило разработать препарат в виде капсул с гранулами СЭФ. Внедрение новых технологических приемов для получения СЭФ привело к разработке нового антикоагулянтного средства (Заявка на изобретение № 201230594 (048022) от 17.07.2012).

TECHNOLOGY AND APPLICATION OF COMPLEX BIOTECHNOLOGICAL PREPARATIONS FROM FUCUS SEAWEED

Obluchinskaya E.D.
Murmansk Marine Biological Institute of the Kola Scientific Centre
of the Russian Academy of Sciences (MMBI KSC RAS), Murmansk, Russia

Fucus seaweed is perspective raw materials for reception of biologically active substances (БАВ). They contain of polysaccharides (fucoidan, alginate), polyphenols, lipids and other biologically active substances (BAS). The spectrum of application of fucus preparations is wide, and is caused by their phytochemical compound. Basically preparations from seaweed are used in treatment-and-prophylactic practice in a nutriceuticals.

Polysaccharide fucoidan is of special interest from fucus BAS (contains more than 50% of fucose). Fucoidan possesses immunomodulating property, geparin like action, antiviral and antimicrobial activity. But the drugs on fucoidan basis is not developed either in our country or abroad. Absence of scientifically proved technology containing fucoidan preparations constrains introduction of this valuable polysaccharides in medical practice.

Extracts is most perspective to make in the course of complex use of seaweed. In MMBI KSC RAS is developed and patented technology of complex processing of fucus seaweed (the Patent of the Russian Federation № 2337571), one of which target products is the standardised dry extract of fucus

(DEF). DEF is the polysaccharide and polyphenolic complex containing fucoidan. Immunumodulating activity of DEF is investigated that has allowed to develop a preparation in the form of capsules with granules of DEF. Introduction of new processing methods for DEF reception has led to working out new anticoagulant preparation (the Demand for the invention № 201230594 (048022) from 17.07.2012).

БИОКАТАЛИТИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА L-АСПАРГИНОВОЙ КИСЛОТЫ И РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННЫХ ПРОДУКТОВ НА ЕЁ ОСНОВЕ

Полунина Е.Е., к.т.н.
начальник центральной лаборатории ОАО «Биосинтез»
polunina_ee@biosintez.com
тел. (8412) 58-32-16
факс (8412) 56-85-70
Россия, 440033, г. Пенза, ул. Дружбы, 4

L-аспарагиновая кислота – аминокислота, играет важную роль в метаболизме млекопитающих организмов. Широко применяется в качестве пищевой добавки, как компонент парентерального питания. Объем мирового производства превышает 7000 тонн в год. В России не было собственного производства аспарагиновой кислоты. В тоже время, в состав целого ряда фармацевтических препаратов, часть из которых выпускается и в России, таких как “Аспаркам”, аспарагинат магния, аспарагинат цинка, аминокислотные препараты для парэнтерального питания входит аспарагиновая кислота, являясь востребованным продуктом на Российском рынке.

ФГУП ГосНИИгенетика совместно с ЗАО «Биоамид» разработана биокаталитическая технология получения аспарагиновой кислоты, ОАО «Биосинтез» осуществлена разработка готовых лекарственных форм, организован промышленный выпуск. Традиционно аспарагиновую кислоту в виде смеси D- и L- энантиомеров получают из малеиновой кислоты и аммиака в жестких условиях и низком выходе продукта. Нами реализован альтернативный способ – биокаталитический синтез, позволяющий получать с помощью фермента аспартаза оптически чистую L-аспарагиновую кислоту в мягких условиях с 99% выходом. По качеству субстанция соответствует, а по некоторым показателям превосходит требования Европейской Фармакопеи.

На основе субстанции L-аспарагиновая кислота были разработаны две готовые формы лекарственных средств: «Аспаркам-L раствор для внутривенного введения» и «Аспаркам-L раствор для инфузий». Эти препараты представляют собой стерильные растворы L-аспарагинатов калия и магния. В отличие от известных парентеральных препаратов «Панангин», «Аспаркам», в состав которых входят соли D,L-аспарагиновой кислоты, «АСПАРКАМ-L» ОАО «Биосинтез» получают из чистого L-энантиомера аспарагиновой кислоты. Эндогенными для организма являются L-энантиомеры аминокислот, которые имеют системы транспорта во внутриклеточное пространство, включаются в клеточный метаболизм. Преимущества «АСПАРКАМ-L» перед препаратом «Панангин» были подтверждены комплексными клиническими испытаниями. Несмотря на небольшой временной интервал выпуска, препарат быстро получил известность, и расширение рынка идет ускоренными темпами. Кроме того, обе лекарственные формы включены в новый список ЖНВЛП, введенный в действие с 2010 года. «АСПАРКАМ-L» – оригинальный отечественный препарат полного цикла от производства субстанции до готовой лекарственной формы, защищён патентами.

BIOCATALYTIC TECHNOLOGY OF L-ASPARTIC ACID AND DEVELOPMENT OF INNOVATIVE PRODUCTS BASED ON IT

Polunina E.E.

L-aspartic acid – an amino acid that plays an important role in the metabolism of mammalian organisms. It is widely used as a food additive, as a component of parenteral nutrition. Global production exceeds 7,000 tons per year. Russia had no own production of aspartic acid. At the same time, a range of pharmaceutical products, some of which are produced in Russia also, such as the "Asparkam", magnesium aspartate, zinc aspartate, amino acid preparations for parenteral nutrition include aspartic acid, being a popular product in the Russian market.

FSUE GosNIIgenetika together with CJSC "Bioamid" developed biocatalytic technology for aspartic acid, OJSC "Biosynthesis" performed development of drug products and organized industrial production. Traditionally the aspartic acid as a mixture of D-and L-enantiomer is obtained from maleic acid and ammonia in the harsh conditions and low product yield. We have implemented an alternative way – biocatalytic synthesis, which enables to obtain by means of aspartase ferment optically pure L-aspartic acid under mild conditions with a 99% yield. On the quality of the substance L-aspartic acid is, and by some measures exceeds the requirements of the European Pharmacopoeia.

Based on the substance of L-aspartic acid two formulations of drugs has been developed, "Asparcam-L intravenous solution" and "Asparcam-L solution for infusion." These drugs are sterile solutions of L-aspartate potassium and magnesium. In contrast to conventional parenteral "Panangin", "Asparkam", which include salt D, L-aspartic acid, "Asparcam-L" of OJSC "Biosynthesis" is obtained from pure L-enantiomer of aspartic acid. Endogenous to the body are L-enantiomers of amino acids that have a transport system into the intracellular space are included in the cell metabolism. Advantages of "Asparcam-L" before drug "Panangin" complex were confirmed by clinical trials. Despite the small time interval of production, the drug quickly gained popularity, and market expansion is accelerating. In addition, both formulations are included in the new list of VEP, enacted in 2010. "Asparcam-L" – the original home preparation of the full cycle from drug substance production to finished dosage form, protected by patents.

КОМПОЗИЦИОННЫЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ПРЕПАРАТ «БЕТУЛИН В УГЛЕРОДНОЙ МИКРОСФЕРЕ»: ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ОСНОВНЫЕ ЭФФЕКТЫ ФАРМАКОДИНАМИКИ

Лавренов А.В.[1], Пьянова Л.Г.[1], Герунова Л.К.[2], Седанова А.В.[1]

[1]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки*
Институт проблем переработки углеводородов
Сибирского отделения Российской академии наук,
644040 г. Омск, ул. Нефтезаводская, 54, e-mail: medugli@ihcp.ru

[2]*Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения*
высшего профессионального образования
Омского государственного аграрного университета имени П.А. Столыпина,
644008, г. Омск, ул. Институтская площадь, д. 1,
e-mail: gerliud@mail.ru

Современные экологические условия, увеличение интенсивности воздействия химико-физических и биологических факторов на организм животных и птиц, погрешности технологии содержания и кормления, а также интенсивное использование лекарственных препаратов и вакцин создают предпосылки к развитию иммунопатологии, нарушению обмена веществ, возник-

новению заболеваний желудочно-кишечного тракта, печени, снижению общей резистентности организма и продуктивности животных.

Поиск и создание новых высокоэффективных и безопасных препаратов, позволяющих проводить коррекцию таких состояний, ослабить негативное влияние неблагоприятных факторов, повысить естественную и специфическую резистентность животных – актуальные задачи современной биотехнологии и ветеринарной фармации.

В Институте проблем переработки углеводородов СО РАН разработан композиционный ветеринарный препарат нового поколения – «Бетулин в углеродной микросфере». В докладе представлены особенности синтеза сорбента и его физико-химические свойства.

Наибольшую роль в технологической цепочке синтеза препарата нового поколения играет стадия растворения кристаллического бетулина с последующим его диспергированием и переводом в растворимое состояние, обусловливающее проявление специфических свойств препарата.

Сочетание адсорбционных свойств нанопористой углеродной матрицы и иммуннотропных свойств биологически активного компонента обеспечивает эффективность ветеринарного препарата.

Изучены основные эффекты фармакодинамики препарата. Установлено, что его пролонгированное действие обусловлено иммунокорригирующими и антиоксидантными свойствами. Это подтверждено результатами иммунологических, гематологических и патоморфологических исследований на лабораторных животных.

СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ КАК КАТАЛИЗАТОРЫ ВТОРИЧНЫХ ПРОЦЕССОВ В УСЛОВИЯХ ПЕРЕРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОЙ БИОМАССЫ

Разумовский С.Д., Жорин В.А., Коварский А.Л., Каспаров В.В., Киреева Г.Х., Варфоломеев С.Д.
ИБХФ РАН, Москва, 119 334, ул. Косыгина 4.

Природная растительная биомасса, как правило, представляет собой крупномасштабные жесткие композитные образования (древесина, солома и др.). Конверсии таких материалов в полезные продукты обычно предшествует их механическое измельчение. В зависимости от типа измельчающей аппаратуры и режимов измельчения сильно меняются свойства измельченной массы. Причины таких изменений не вполне ясны, хотя техника измельчения освоена давно.

В наших опытах разрушение макромолекул целлюлозы сопровождалось образованием двух активных фрагментов несущих на себе по неспаренному электрону – радикалов.

Они были обнаружены при изучении спектров ЭПР после механических воздействий на биомассу. Радикалы оказались весьма активными и были способны взаимодействовать с окружающей средой и друг с другом, играя роль катализаторов различных химических реакций. Среди главных процессов с их участием нами было обнаружено протекание низкотемпературной дегидратации макромолекул целлюлозы, амилозы и родственных полимерных углеводов с выделением воды и эстафетная передача цепи в микрофибриллах. Последняя уводила свободную валентность вглубь кристаллита фибриллы и препятствовала ее реакции с кислородом воздуха, сообщая радикалу достаточную устойчивость. Эстафетная передача сопровождалась образованием на конце разорванной макромолекулы полисопряженных непредельных фрагментов с особыми свойствами. Часть свободных макроцеллюлозных радикалов реагировала с лигнинами, находившимися в тесном контакте с разрушенной макромолекулой, образуя новый тип стабильных радикалов, хорошо видимых в спектрах ЭПР.

Из проведенных опытов следует, что наблюдаемое изменение свойств обусловлено не только степенью разрушения несущего каркаса растительного композита, которым являются микрофибриллы целлюлозы, но, и, главным образом, вторичными процессами, катализированными активными промежуточными радикалами, возникшими в результате механических воздействий на макромолекулы целлюлозы.

ГИДРОБИОНТЫ КАК ИСТОЧНИК БАВ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Шиков А.Н., Пожарицкая О.Н., Уракова И.Н., Макарова М.Н., Макаров В.Г.
С-Петербургский Институт Фармации,
195248, С-Петербург, ул. Партизанская, 27, 424

По разным оценкам из морских гидробионтов выделено от 10 000 до 18 000 химических соединений, многие из которых обладают фармакологической активностью. В 2011 г количество публикаций о новых соединениях из морских организмов выросло на 15% по сравнению с 2010 г. Эти вещества являются вторичными метаболитами, то есть природными соединениями, не имеющими всеобщего распространения и присутствующими только у представителей отдельных таксонов или даже одного вида.

Микроорганизмы и фитопланктон, водоросли, губки, моллюски, иглокожие, кораллы, рыба и другие гидробионты являются богатыми источниками высокоэффективных соединений. Чаще всего из гидробионтов выделяют: пептиды, полисахариды, полиненасыщенные жирные кислоты, антиоксиданты, ферменты, витамины и минералы.

Из гидробионтов выделены соединения, используемые в терапии рака, вирусных, микробных, грибковых инфекций, заболеваний сердечно-сосудистой системы, противовоспалительные средства, иммуномодуляторы и др.

С использованием оригинальных технологий нами разработаны и изучаются высокоэффективные комплексы из гидробионтов с иммуномодулирующими, антиоксидантными, гипотензивными, противовоспалительными свойствами.

Исследование морских организмов как источников биологически активных соединений, их дальнейшая химическая трансформация, получение синтонов является важной частью биотехнологии и медицины. Интенсивность этих исследований возрастает в последние годы и приобретает все большее значение.

HYDROBIONTS AS A SOURCE OF BIOLOGICAL ACTIVE COMPOUNDS FOR BIOTECHNOLOGICAL PREPARATIONS

Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Urakova I.N., Makarova M.N., Makarov V.G.
St-Petersburg institute of Pharmacy,
195248, St-Petersburg, Partizanskaya, 27, 424

About 10000-18000 chemical compounds with pharmacological activity has been isolated from hydrobionts. A 15% increase in the number of compounds from marine organism reported in 2011 compared with 2010. These compounds are secondary metabolites and presented in organisms of special taxones or even in one species only.

Marine microorganisms and phytoplankton, algae, sponges, molluscs, echinoderms, corals, fish are valuable source of high effective molecules. Peptides, polysaccharides, fatty acids, antioxidants, enzymes, vitamins and minerals are the most common isolated active principles.

Marine products show many pharmacological actions like anticancer, antiviral, antibacterial, cardiovascular, antifungal, anti-inflammatory, immunomodulatory and others.

High-technology complexes of active compounds with immunomodulatory, antioxidant, hypothensive activities were developed and studied in our Institute..

Study of marine ecosystem for their bioactive potential as therapeutic, isolation of compounds and its chemical transformation being an important part of biotechnological and medical sciences, which can picked up the rhythm in recent years with increasing important in human life.

ОПЫТ СОЗДАНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПРОМЫШЛЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОГО ИНСУЛИНА ЧЕЛОВЕКА ПОЛНОГО ЦИКЛА – ОТ СУБСТАНЦИИ ДО ГОТОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ

Степанов Алексей Вячеславович,
доктор медицинских наук, профессор

1. История создания технологии производства инсулина полного цикла. Влияние условий культивирования и очистки на выпуск готового продукта
2. Современные требования к структуре доклинических исследований и влияние этих данных на объем клинических исследований
3. Результаты доклинических и клинических исследований (на примере отечественных генно-инженерных инсулинов полного цикла – РинсулинР и Ринсулин НПХ, выпускаемых на заводе «Герофарм-Био»)
4. Требования американской и европейской фармакопей и соответствие отечественных препаратов РинсулинР и Ринсулин НПХ указанным статьям
5. География распространения препаратов
6. Перспективы развития продукта: новые формы выпуска

СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ИННОВАЦИОННЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ДОБАВОК ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА КОРМОВ

Ушакова Н.А.,[1] Правдин В.Г.[2], Кравцова Л.З.,
[1]*ФГБУН ИПЭЭ РАН, 119071 г. Москва, Ленинский пр., 33*
[2]*ООО НТЦ БИО, 309292 г. Шебекино, Белгородская обл., ул.Докучаева, д. 2*

Для современного промышленного животноводства, птицеводства и рыбоводства обязательным условием эффективного ведения хозяйства является повышение общей продуктивности, связанное с увеличением производства продукции, повышением неспецифической резистентности организма при высокой конверсии корма, и экологическая безопасность производимых продуктов питания. На российском рынке представлена линия препаратов, которая не имеет аналогов за рубежом – препараты, сочетающие в себе пробиотическую и ферментную активность. Применение нового поколения комбинированных ферментно-пробиотических кормовых добавок, а также добавок, обогащенных фитобиотиками, относится к числу наиболее перспективных альтернатив кормовым антибиотикам. Микроорганизмы обеспечивают пробиотический эффект и являются продуцентами ферментов, а полученная в результате кормовая добавка одновременно стимулирует рост и развитие животных, способствует профилактике кишечных инфекций, нормализации микробиоты, позитивно влияет на стрессоустойчивость животных и повышает усвояемость корма.

Согласно исследованиям Abercade, в 2010 году объем внутреннего производства пробиотических препаратов оценивался в 1,5 тыс. тонн. Предполагается, что рост на российском рынке кормовых препаратов сегмента пробиотиков будет осуществляться прежде всего за счет внутреннего производства, увеличиваясь на 130–135 тонн в год.

Особенности физиологии и рационов сельскохозяйственных животных учтены в рецептуре комплексных кормовых пробиотических препаратов серии Ферм КМ и ПроСтор, получаемых в виде биопленки на фитоносителе, и производимых в Белгородской области ООО «НТЦ БИО» – предприятием, выходящим в лидеры по объему производства ДБА. Кормовые добавки отличаются высокой биологической активностью и экономически обоснованны для применения в рационах животных.

STATUS AND PROSPECTS OF DOMESTIC INNOVATIVE PROBIOTIC SUPPLEMENTS TO IMPROVE THE QUALITY OF FEED

Ushakova N.A.[1], Pravdin V.G.[2], Kravtsova L.Z.[2]
[1]*IPEE RAS, 119071 Moscow, Leninsky Prospect, 33*
[2]*LLC "SEC BIO", 309292 Belgorod region, Shebekino, Ul.Dokuchaeva, 2*

For modern industrial livestock, poultry and fisheries prerequisite of effective economic management is to increase the overall productivity because of increased production, increased non-specific resistance at high feed conversion, and environmental safety of manufactured foods. In the Russian market line drugs, which has no analogues abroad – products that combine probiotic and enzyme activity. Application of the new generation of combined enzyme-probiotic feed additives and supplements, fortified phytobiotics, is among the most promising alternatives to feed antibiotics. Microorganisms provide probiotic effect and are producers of enzymes, and the resulting feed supplement at the same time stimulate the growth and development of animals, helps prevent intestinal infections and the normalization of the microbiota, have a positive effect on stress levels and increases the digestibility of animal feed.

According to studies Abercade, in 2010, domestic production of probiotic products is estimated at 1.5 tonnes. It is assumed that the growth of the Russian market of food products segment probiotics will be primarily through domestic production, increasing by 130-135 tons.

Especially physiology and diets of farm animals considered in the formulation of integrated feed probiotics series Ferm KM and ProStor, received in the form of a biofilm on phyto-carrier, and produced in the Belgorod region LLC "SEC BIO" – now facing a leader in terms of production DBA. Feed additives are highly biologically active and economically justified for use in animal diets.

ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА СОВМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДСТВ.

Жук Ольга Вадимовна
ЗАО «Биокад», Россия, Московская область,
Красногорский район, с. Петрово-Дальнее.

В настоящее время в сфере биотехнологии увеличивается количество небольших компаний, стремительное развитие науки и присутствие на рынке готовых технологических «платформ» делает сложные технологии доступными для небольших фирм, возрастает конкуренция, требующая быстрого и диверсифицированного вывода препаратов на рынок. Разрабатываются лекарства, требующие в очень небольшом количестве, но имеющие высокую социальную значимость. Также не только американский и европейский рынки, но и рынки России и СНГ пере-

ходят на обязательное исполнение правил GMP, что ужесточает регулирование деятельности производителей.

В таких условиях, с одной стороны, невыгодно, а часто невозможно, строить новые производственные мощности под новые препараты, с другой стороны, отсутствие кросс-контаминации – обязательное и одно из самых важных требование инспекторов GMP, невыполнение которого может стоить производителю сертификата.

Производства нескольких препаратов на одной площадке – реальность и неизбежна для большинства компаний, но для того, чтобы обеспечить качество и соответствовать высоким стандартам производства, необходимо обеспечить из надежное разделение.

Для этого используются много инструментов, среди которых:

- система менеджмента качества на всех уровнях управления
- планировочные решения
- инженерные решения
- одноразовые технологии

В докладе будет продемонстрировано успешное обеспечение качества на производственной площадке ЗАО «Биокад».

QUALITY ASSURANCE OF COMBINED MANUFACTURES.

Zhuk Olga Vadimovna
BIOCAD, Russia, Moscow region,
Krasnogorskiy distrit, Petrovo-Dalnee.

Present time a lot of small companies have been emerged, a presence of platform technologies make it possible to access them rapidly, competition has been increased and required fast and diversified launch of new drug products. There are a lot of new-created drugs that are required in little amount but have a great social value. Soon GMP standard will be implemented in Russia and CIS and will be obligatory for all pharmaceutical producers.

In such circumstances it is very difficult to build new facilities for every one new product but also very difficult to conform to GMP inspectors requirements about a cross-contamination ang segregation.

So combined manufactures is reality and there are a lot of tools to support and assure quality exist.

At Biocad facilities a lot of tools are implemented and work:

- Total Quality Mnagement
- Lay-out segregation
- Engineering segregation
- -Single-Use Technologies

This report will present examples and illustrations.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ И ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЭКСТРАКТОВ КОРНЯ СОЛОДКИ ГОЛОЙ *GLYCYRRHIZA GLABRA*, СОЦВЕТИЙ ЦМИНА ПЕСЧАНОГО *HELICRYSUM ARENARIUM* И ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА МЕЛКОЦВЕТКОВОГО *ACHILLEA MICRANTHA* ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИХ В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ КОМПОНЕНТОВ БИОПРЕПАРАТОВ

Астафьева О.В.
ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный университет»,
Астрахань, 414000, пл. Шаумяна, 1

Использование растительных средств, в частности, экстрактов, в качестве компонентов биопрепаратов различного назначения, вместо химических аналогов, является перспективным направлением биотехнологии.

В данной работе были исследованы противомикробные свойства экстрактов растений аридной зоны Астраханского региона – солодки голой *Gl. glabra*, цмина песчаного *H. arenarium* и тысячелистника мелкоцветкового *A. micrantha*. Природные экологические условия региона: высокая инсоляция, высокая температура и низкая влажность способствуют формированию здесь в растениях биологически активных веществ с повышенными концентрациями. Исследования проводились методами диффузии в агар и методом серийных разведений в жидкой питательной среде с определением минимально ингибирующей концентрации. Противомикробную активность исследовали по отношению к непатогенным штаммам тест-культур *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*. Также исследовали химический состав изучаемых экстрактов методами УФ – спектроскопии, тонкослойной хроматографии, колоночной жидкостной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии. Исследование противомикробной активности экстрактов проводили в лаборатории биотехнологий Астраханского государственного университета. Изучение химического состава экстрактов проводили в лабораториях университета Ca'Fosacri (Венеция, Италия). Работа выполнялась в рамках совместной аспирантуры согласно договора между Астраханским государственным университетом и университетом Ка'Фоскари (Венеция, Италия) по специальностям биотехнология и химия.

Все исследуемые экстракты проявили значительную противомикробную активность, обоснованную наличием в составе экстрактов изучаемых растений противомикробных биологически активных веществ (сапонинов, флавоноидов, терпеноидов). В качестве контроля использовали известные антибиотики, которые хоть и обладали немного более высоким противомикробным действием, но активность экстрактов носила пролонгирующий характер. Что дает возможность предлагать данные экстракты в качестве противомикробных компонентов биопрепаратов вместо химических аналогов.

THE STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF EXTRACTS OF ROOT OF LICORICE *GLYCYRRHIZA GLABRA*, INFLORESCENCE OF IMMORTELLE *HELICRYSUM ARENARIUM* AND YARROW *ACHILLEA MICRANTHA* FOR USE AS ANTIMICROBIAL COMPONENTS OF BIOPRODUCTS

Astafyeva O.V.
Astrakhan State University,
Astrakhan, 414000, pl. Shaumanya, 1

The use of plant products, in particular, extracts, as components of biological products for different purposes, instead of chemical analogues is promising direction of biotechnology.

In this research we investigated the antimicrobial properties of extracts of plants of the arid zone of the Astrakhan region – licorice *Gl. glabra*, immortelle *H. arenarium* and yarrow *A. micrantha*. Natural ecological conditions of the region: the high insolation, high temperatures and low humidity contribute to the formation in plants is biologically active substances with high concentrations. The studies were conducted method diffusion in agar and the method of serial dilutions in liquid growing medium with the definition of the minimum inhibitory concentration. Antimicrobial activity was studied in relation to the non-pathogenic strains of test cultures *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*. Also researched the chemical composition of the extracts studied by UV – spectroscopy, thin layer chromatography, column liquid chromatography, high performance liquid chromatography. Research of the antimicrobial activity of extracts was conducted in the laboratory of biotechnology Astrakhan State University. Study of the chemical composition of the extracts was carried out in the laboratories of the University Ca'Fosacri (Venice, Italy). The research was performed under the joint graduate according to the agreement between the Astrakhan State University and the University of Ca'Foscari (Venice, Italy) in the field of biotechnology and chemistry.

All research extracts showed significant antimicrobial activity, informed presence in the extracts of the studied plants antimicrobial bioactive substances (saponins, flavonoids, terpenoids). As a control, used known antibiotics, which, although had a slightly higher antimicrobial activity, but the activity of extracts was of protracting character. That allows us to offer this extracts as antimicrobial components of bioproducts instead of chemical analogues.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОКОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ФЕРМЕНТНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ РАЗЛИЧНЫХ ГРИБНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ

Чекушина А.В.[1], **Синицын А.П.**[1,2]
[1]*Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН,*
Москва, 119071, Ленинский проспект, 33-2
[2]*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова,*
Москва, 119991, Ленинские горы, 1-11

В настоящее время активно ведется поиск возобновляемых экологичных источников энергии и создание энергосберегающих технологий. В качестве одного из основных альтернативных источников энергии можно рассматривать биотопливо из возобновляемой раститительной биомассы.

Одна из ключевых стадий биоконверсии растительного сырья является ферментативный гидролиз целлюлозы и других полисахаридов до глюкозы и иных сахаров с последующим сбраживанием в различные полезные продукты. К ферментам, осуществляющим биоконверсию растительного сырья, относятся различные целлюлазы и гемицеллюлазы, которые продуцируются в основном микроскопическими грибами и бактериями. Среди промышленных микробных

продуцентов целлюлаз лидерами являются различные штаммы грибов *Trichoderma* (*T. reesei*, *T. longibrachiatum*). Но также ведутся работы по поиску альтернативных продуцентов. Грибы рода *Penicillium* и *Chrysosporium*, которые по таким параметрам как сбалансированность ферментного комплекса и уровень секреции сопоставимы с *Trichoderma*, могут стать такой альтернативой.

Нами было проведено сравнительное исследование гидролитической способности различных ферментных препаратов, на основе грибов родов *Trichoderma, Penicillium и Chrysosporium*, на различных видах растительного сырья (измельченная багасса, измельченная обесмоленная сосновая древесина и измельченная осиновая древесина). Было показано, что препараты на основе *Penicillium и Chrysosporium* обладают схожей гидролитической способностью, а иногда и превышают (на 5-10%) препараты на основе *Trichoderma*.

COMPARATIVE ANALYSIS OF PLANT RAW MATERIALS BIOCONVERSION BY ENZYME PREPARATIONS FROM DIFFERENT FUNGI PRODUCERS

Chekushina A.V.[1], **Sinitsyn A.P.**[1,2]
[1]*A.N. Bach Institute of biochemistry RAS,*
Moscow, 119071, Leninsky prospect, 33-2
[2]*Chemical Department, M.V. Lomonosov Moscow State University,*
Moscow, 119991, Leninskiye Gory, 1-11

Nowadays, the searching of renewable energy sources and creation of energy-efficient technologies carried out actively. One of the main alternative energy sources is biofuel from renewable plant biomass.

One of the key steps of plant bioconversion is the enzyme hydrolysis of cellulose and other polysaccharides to glucose and other sugars with following conversion to different useful products. The enzyme hydrolysis of plant biomass is catalyzed by cellulases and hemicellulases produced by microscopic fungi and bacteria. The leader among industrial producers is different mutant strains of *Trichoderma* (*T. reesei*, *T. longibrachiatum*). However, searching of real alternatives to *Trichoderma* enzymes carries out. The fungi of *Penicillium* and *Chrysosporium* might represent such alternatives because they are competitive to *Trichoderma* on balance of enzyme complex and protein production level.

Comparative study of hydrolytic efficiency of different preparations from *Trichoderma*, *Penicillium* and *Chrysosporium* fungi on different types of cellulose-containing feedstock (such as crushed bagassa, crushed deresined pine wood, crushed aspen wood) was carried out. As a result, the better performance of enzyme preparations from *Penicillium* and *Chrysosporium* in the hydrolysis process compare or sometimes exceed (≈ 5-10%) with preparations from *Trichoderma* for all types of investigated lignocellulosic substrates was demonstrated.

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ БИОСИНТЕЗА КАРОТИНОИДОВ ДРОЖЖЕЙ РОДА RHODOTORULA

Червякова О.П., Парфенова М.Д., Суясов Н.А., Шакир И.В.
Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
кафедра биотехнологии, 125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9.

Каротиноидные пигменты – обширная группа соединений, обладающих высокой биологической активностью, спектр применения которых варьируется от косметической промышленности

до наноцевтики. В настоящее время существует несколько принципиально различных подходов к получению каротиноидных пигментов, а именно, экстракция из растительного сырья, химический и микробиологический синтезы. Необходимо отметить, что использование растительного сырья носит сезонный характер и приводит к образованию значительного количества отходов, а химический синтез дает не стереоспецифичный продукт, требующий многостадийной очистки. Поэтому все большее внимание уделяется получению каротиноидов с использованием каротин синтезирующих микроорганизмов.

На кафедре биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева в рамках представленной работы были проведены исследования по интенсификации биосинтеза каротиноидов дрожжами рода Rhodotorula и установлено, что при облучении культуры синим светом и при внесении в ферментационную среду пероксида водорода содержание каратиноидов в дрожжевой биомассе увеличилось в 2 раза. Для достижения большего выхода каротиноидов была проведена адаптация исследуемых культур к действию выше указанных факторов путем многократных последовательных пересевов суточной культуры.

Установлено, что содержание каротиноидных пигментов в биомассе адаптированных дрожжей рода Rhodotorula увеличивается до 7 раз по сравнению с контролем. При этом, воздействие как синим светом, так и пероксидом водорода оказывает гомологичное влияние на количественный и качественный состав каротиноидов для соответствующих дрожжевых штаммов. Это позволяет предположить схожий механизм воздействия указанных факторов на клетки дрожжей. Показано, что адаптированная дрожжевая культура сохраняет свою активность в отношении биосинтеза каротиноидов в течение не менее четырех последовательных пересевов.

INTENSIFICATION OF CAROTENOID BIOSYNTHESIS OF YEAST GENUS RHODOTORULA

Chervyakova O.P., Parfenova M.D., Suyasov N.A., Shakir I.V.
D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia,
department of biotechnology. Moscow,
Miusskaya sq.9 Russia 125047.

Carotenoid pigments are a large group of compounds with high biological activity and their range of application varies from cosmetics industry to industries where nanotechnologies are used. Currently, there are several fundamentally different approaches to obtaining carotenoid pigments, namely, extraction from plant material, chemical and microbiological synthesis. It should be noted that the use of plant materials is seasonal and results in a significant amount of waste, chemical synthesis provides not stereospecific product that requires a multi-step purification. Therefore, more attention is paid to the use of carotenoids with carotene synthesizing microorganisms.

The study on the intensification of carotenoid biosynthesis by yeast g. *Rhodotorula* was carried out as a part of the work given at the department of biotechnology of the Mendeleev university, and it was found that the exposure to blue light and the addition of hydrogen peroxide to fermentation medium leads to levels of carotenoids increased 2 times in the yeast biomass. To achieve a greater yield of carotenoids the adaptation to the action of the above mentioned factors for investigated cultures was carried out by multiple serial passages of the daily culture.

It was found that the content of carotenoid pigments in the biomass of adapted yeasts g. *Rhodotorula* increases up to 7 times compared to the control. In this case, the impact of a blue light and hydrogen peroxide has the same effect on quantity and quality of carotenoid composition for the corresponding yeast strains. The mechanism of action of these factors on the yeast cells is supposed to be similar. The adapted yeast culture is shown to retain its activity for carotenoid biosynthesis at least in four serial passage.

АДАПТИВНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ *ESCHERICHIA COLI* K-12 MG1655 ПРИ РОСТЕ НА ЭТАНОЛЕ

Еремина Н.С., Стойнова Н.В., Ямпольская Т.А
ЗАО «Научно-исследовательский институт Аджиномото-Генетика»
117545, г. Москва, 1-ый Дорожный пр-д, д. 1, кор.1

В настоящее время *Escherichia coli* является одним из главных объектов биотехнологии. Поэтому представляется важным поиск альтернативных традиционным источников углерода, пригодных для роста этого организма. Этанол является одним из таких веществ.

В качестве исходного для работы был использован штамм MG1655 $P_{L\text{-}tac}$adhE*, несущий мутации в гене *adhE,* приводящие к синтезу устойчивой к кислороду алкогольдегидрогеназы, что позволяет ему использовать этанол в качестве единственного источника углерода, в отличие от штамма *E. coli* дикого типа (Ptitsyn et al., 2007). Методом адаптивной эволюции был получен штамм FEt, скорость роста которого в 1,4 раза превышала скорость роста исходного штамма.

Сравнительный геномный анализ (Comparative genome sequencing) показал, что штамм, полученный в результате адаптивной эволюции, содержит 46 SNP, из которых 8 расположены в кодирующих областях. Ключевой мутацией, ответственной за улучшение роста FEt на этаноле, оказалась мутация в гене, кодирующем аденилатциклазу, $cyaA^{K432Q}$. Инактивация гена *cyaA* приводила к полной потере способности к росту на этаноле; таким образом, эффект мутации $cyaA^{K431Q}$ не является результатом полной инактивации CyaA. Анализ влияния $cyaA^{K432Q}$ на способность *E. coli* к росту на различных субстратах показал, что данная мутация улучшает рост микроорганизма на этаноле и ацетате, которые метаболизируются через ацетил-КоА, и ухудшает рост на субстратах, в утилизации которых участвуют ферменты, находящиеся под контролем катаболитной репрессии.

Таким образом, полученные данные позволяют предположить, что полученная мутация $cyaA^{K432Q}$, возможно, уменьшает активность аденилатциклазы. Данная мутация, вероятно, изменяет внутриклеточный пул цАМФ и оказывает плейотропный эффект, в частности, меняя способность *E. coli* к утилизации различных источников углерода. Использование мутаций такого рода может быть целесообразно для расширения списка биотехнологически значимых источников углерода.

Ptitsyn LR, Altman IB, Kotliarova VA, Mokhova ON, Yampolskaya TA, et al.(2007) A method for producing an L-amino acid using a bacterium of the *Enterobacteriaceae* family. Patent application WO2008010565.

ADAPTIVE EVOLUTION OF *ESCHERICHIA COLI* K-12 MG1655 DURING GROWTH ON ETHANOL

Eremina N.S., Stoynova N.V., Yampolskaya T.A
Ajinomoto-Genetika Research Institute
1st Dorozhny pr., 1-1, 117545 Moscow, Russian Federation

At present, *Escherichia coli* is one of the major biotechnology objects and the search for new carbon sources for cultivation of this organism is important. Since bioethanol production now increases all over the world, ethanol becomes one of the most available raw materials.

The engineered strain MG1655 $P_{L\text{-}tac}$adhE*, exhibited an overexpression of oxygen-resistant alcohol dehydrogenase AdhE, was earlier shown to utilize ethanol as a sole carbon source aerobically, in

contrast to the wild-type *E. coli* (Ptitsyn et al., 2007). On the basis of this strain, by adaptive evolution method, we obtained the strain FEt enable to consume ethanol efficiently. Thus, FEt exhibited about 1,4 -fold increase in specific growth rate compared to the parent strain.

Comparative genome sequencing revealed that the evolution experiment resulted in 46 SNP in FEt genome; 8 of them were located in coding regions. Among the obtained SNP, the mutation in adenylate cyclase gene, $cyaA^{K432Q}$, was identified as a crucial factor that improved the growth during the adaptation to ethanol utilization. This mutation, individually introduced into MG1655 $P_{L\text{-}tac}$adhE*, 1,3-fold increased the specific growth rate. Deletion of *cyaA* in the same strain led to the loss of its ability to grow on ethanol, suggesting that the positive effect of $cyaA^{K431Q}$ mutation was not a result of complete enzyme inactivation.

Analysis of an influence of $cyaA^{K432Q}$ on the ability of *E. coli* to consume different carbon sources showed that this mutation positively affected the growth on C2 compounds, metabolized via acetyl-CoA (ethanol, acetate), whereas the growth on a number of other sourses (particularly, succinate, glycerol, xylose), utilized with participation of catabolically regulated genes, was decreased. Meanwhile, the mutation $cyaA^{K432Q}$ did not alter the glucose consumption ability.

Taken together, these data indicated that the obtained mutation, $cyaA^{K432Q}$, apparently decreased adenylate cyclase activity. This mutation evidently changed cAMP intracellular pool and, thereby, possessed pleiotropic effect, particularly, altering an ability of *E. coli* for utilization of different carbon sources. Such kind mutations could be useful to broaden a range of raw materials for biotechnological purposes.

Ptitsyn LR, Altman IB, Kotliarova VA, Mokhova ON, Yampolskaya TA, et al.(2007) A method for producing an L-amino acid using a bacterium of the *Enterobacteriaceae* family. Patent application WO2008010565.

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПЕЧАТНЫЕ ЭЛЕКТРОДЫ ДЛЯ МНОГОКАНАЛЬНОГО АНАЛИЗА ПОЛУПРОДУКТОВ БРОЖЕНИЯ

Каманин С.С., Балахонова А.И., Арляпов В.А.
ФГБОУ ВПО Тульский государственный университет,
300012, г. Тула, пр-т Ленина, д. 92

Одновременное определение содержания в ферментационных средах исходных компонентов и продуктов важно для контроля биотехнологических процессов, степени превращения сырья и качества готовой продукции. Заменой традиционных методов анализа, отличающимся трудоемкостью, высокой стоимостью и недостаточной точностью, являются биосенсорные аналитические системы, характеризующиеся портативностью, удобством в работе, а также возможностью компьютеризации и автоматизации процесса анализа. Целью данной работы являлась разработка ферментных биосенсоров на основе печатных электродов для одновременного определения содержания этанола и глюкозы на различных стадиях процесса брожения.

В результате работы были получены модифицированные печатные электроды на основе берлинской лазури и ферментов глюкозоксидазы и алкогольоксидазы, иммобилизованных в гель поперечно-сшитого бычьего сывороточного альбумина. Диапазон определяемых концентраций для биосенсоров на глюкозу и этанол составил соответственно 0,03-1,0 мМ и 0,02-0,8 мМ субстрата. Коэффициент чувствительности для биосенсора на глюкозу составил 90 мкА·М$^{-1}$, для биосенсора на этанол – 33 мкА·М$^{-1}$.

Модифицированные печатные электроды, описанные в данной работе, были опробованы на реальных образцах. Статистическими методами установлено, что концентрации глюкозы и эта-

нола, определённые с помощью модифицированных электродов с учетом доверительных интервалов совпадают с результатами, полученными референтным методом – высокоэффективной жидкостной хроматографией.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы», госконтракты № 16.740.11.0766, 14.B37.21.0561.

MODIFIED SCREEN-PRINTED ELECTRODES FOR MULTICHANNEL ANALYSIS OF FERMENTATION INTERMEDIATES

Kamanin S.S., Balahonova A.I., Arlyapov V.A.
Tula State University, 300012, Tula, pr. Lenina, 92

Simultaneous determination of the source components and products in fermentation medium is important for the monitoring of biotechnological processes, conversion degree of raw material and product quality. Biosensor analytical systems can be alternative to the common methods analysis, which are characterized by complexity, high cost and lack of accuracy. Biosensor analytical systems possess such qualities as portability, ease of operation and the possibility of the analysis process automation. The aim of this work was to develop enzyme biosensors based on screen-printed electrodes for simultaneous determination of ethanol and glucose at different stages of fermentation.

As a result of the work modified printed electrodes based on Prussian Blue and enzymes (glucose oxidase and alcohol oxidase immobilized in a gel of cross-linked bovine serum albumin) were obtained. The detection range for glucose and ethanol biosensors amounted to 0,03-1,0 0,02-0,8 mM and mM respectively. Sensitivity for glucose biosensor was 90 $\mu A \cdot M^{-1}$, and for ethanol biosensor it was 33 $\mu A \cdot M^{-1}$.

Modified screen-printed electrodes described in this paper have been tested on real samples. Concentrations of glucose and ethanol determined by modified electrodes were the same as the results obtained by the reference method (high performance liquid chromatography) considering confidence intervals.

The work was supported by the Federal Program "Scientific and scientific-pedagogical personnel of innovative Russia" for 2009-2013, state contracts 16.740.11.0766, 14.B37.21.0561.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ДСК ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ГИДРОЛИЗА БИОРАЗЛАГАЕМЫХ КОМПОЗИЦИЙ СОПОЛИМЕРОВ ПРОПИЛЕНА И ЭТИЛЕНА С ДРЕВЕСНЫМ НАПОЛНИТЕЛЕМ

Колесникова Н.Н., Луканина Ю.К., Попов А.А.
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля
Российской академии наук
119334, Россия, г. Москва, ул. Косыгина,4

С помощью метода дифференциальной сканирующей калориметрии показано изменение химического состава древесного наполнителя в результате воздействия органических кислот, продуктов метаболизма микроорганизмов, на смесевые композиции на основе сополимеров пропилена и этилена с древесным наполнителем. Пленочные образцы композиций на основе полипропилена, стат- и блок-сополимеров пропилена и этилена (3 и 10% этиленовых звеньев, соответственно) с 30 мас.% древесной муки выдерживались в средах 5% молочной, лимонной

или щавелевой кислот в течение 60 суток при T = 50 ^{0}C. Промытые и высушенные образцы анализировали на микрокалориметре ДСМ -10м в области температур 50 – 300 ^{0}C. В процессе взаимодействия древесины с водой в кислой среде происходит вымывание экстрагируемых веществ и простых сахаров, образующихся из полисахаридов гемицеллюлозы, а также повышение ее пористости. Термограммы исходных и после гидролиза образцов характеризуются наличием эндотермического пика плавления полипропилена с максимумом около 160 ^{0}C. Кроме того, выше 200 ^{0}C на термограммах проявляются ярко выраженные экзотермические эффекты, обусловленные разложением компонентов древесины различной термостабильности. Характер изменений термограмм после воздействия разных кислот на образцы одинаков: экзотермический пик менее термостабильных (200-260 ^{0}C) компонентов древесины – экстрагируемых веществ и гемицеллюлоз – значительно уменьшается либо исчезает, что связано с их превращением и вымыванием в ходе гидролиза. Одновременно происходит смещение начала разложения более термостабильных компонентов древесины в сторону низких температур. Этому может способствовать увеличение содержания кислорода в древесине вследствие повышения пористости, что приводит к ускорению процесса разложения. Таким образом, изменение химического состава древесного наполнителя проявляется в особенностях его термического разложения.

APPLICATION OF DSC TO STUDY THE HYDROLYSIS OF BIODEGRADABLE COMPOSITIONS OF PROPYLENE AND ETHYLENE COPOLYMERS WITH WOOD FILLER

Kolesnikova N.N., Lukanina Yu.K., A. Popov A.A.
N.M.Emanuel Institute of biochemical physics,
Russian Academy of Science,
119334, 4 Kosigin street, Moscow, Russia

The impact of organic acids, metabolic products of microorganisms on mixed compositions of propylene and ethylene copolymers with wood filler was studied. The changes of the chemical composition of wood filler were showed using the method of differential scanning calorimetry. Film samples of compositions based on polypropylene, stat- and block propylene and ethylene copolymers (3 and 10% of ethylene units, respectively) with 30 wt.% wood flour were incubated in media 5% lactic, citric or oxalic acid for 60 days at T = 50 ^{0}C. Washed and dried samples were analyzed using microcalorimeter DSM-10m in the temperature range 50 - 300 ^{0}C. During the interaction of wood with water in an acid medium extractables and simple sugars produced from hemicellulose polysaccharides washed out, as well as wood porosity increase. Termogramms of original and after hydrolysis samples are characterized by an endothermic melting peak of polypropylene, with a maximum of about 160 ^{0}C. In addition, more than 200°C in the thermogramms are shown pronounced exothermic effects due to the decomposition of the wood components of different thermal stability. The changes pattern of samples thermogramms after exposure to different acids are the same: the exothermic peak (200-260 ^{0}C) of less thermostable wood components – extractables and hemicellulose – significantly decreases or disappears. It's due to their conversion and leaching during hydrolysis. Simultaneously shifting of the start of degradation more thermostable wood components to lower temperatures is observed. An increase the oxygen content in the wood due to the increase of porosity leads to faster decay. Thus, changes in the chemical composition of wood filler are manifested in features of its thermal decomposition.

БИООБРАСТАНИЕ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ ПОЛИПРОПИЛЕН/ ЦЕЛЛЮЛОЗА В ПОЧВЕ

Луканина Ю.К., Королева А.В., Хватов А.В., Колесникова Н.Н., Попов А.А.
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук
119334, Россия, г. Москва, ул. Косыгина,4

Основными агентами биоповреждения целлюлозосодержащих материалов являются развивающиеся на них грибы. Фунгистатические (дубильные вещества) и специфические токсические соединения древесины препятствуют поражению древесины грибами. Для придания биоразлагаемых свойств композиционным полимерным материалам возможно использование в качестве наполнителя выделенной из древесины целлюлозы.

Пленочные образцы полипропилена (ПП) и его композиций с целлюлозой (30 масс.%) (ПП-Ц) (толщина 80-100 мкм) были помещены в почву, изготовленную в соответствие с ГОСТ 9.060-75 для определения их устойчивости. Время экспозиции составило 18 месяцев при T= 25 ± 2 ^{0}C и влажностью 60%. Образцы были промыты и высушены до постоянной массы для определения степени потери массы и их анализа на ИК-Фурье спектрометре.

Визуальная оценка после выдерживания в почве показала, что образец ПП не претерпевает каких-либо видимых изменений. Пленочный образец ПП-Ц мутнеет, а на поверхности образуются очаги поражение микромицетами. Количество микроколоний составляет 7-8 шт/см^2. При микроскопировании ПП-ПЦ наблюдается интенсивный рост, развитие микромицетов, а так же их спороношение. В результате пребывания в почве масса пленочных образцов ПП осталась постоянной, а для композиций ПП-Ц потеря массы составила 18% от первоначальной. Анализ ИК-спектров образцов показал уменьшение интенсивности полос, соответствующих кислородсодержащим группам, присутствующим в спектре целлюлозы.

Таким образом, показано, что введение в синтетическую матрицу природного наполнителя увеличивает скорость потери массы композиционных материалов в почве, приводит к адгезии микромицет на поверхности и интенсивному биообрастанию пленочных образцов в почве, за счет использования целлюлозы в качестве питательной среды.

BIOFOULING OF POLYPROPYLENE/CELLULOSE COMPOSITE C MATERIALS IN SOIL

Lukanina Yu.K., Koroleva A.V., Khvatov A.V., Kolesnikova N.N., Popov A.A.
N.M. Emanuel Institute of biochemical physics, Russian Academy of Science,
119334, 4 Kosigin street, Moscow, Russia

The basic agents of biodamage of cellulose containing materials are fungi developing on them. Fungistatichesky (tannins) and specific toxic connections of wood interfere with defeat of wood by mushrooms. For giving of biodecomposed properties to composite polymeric materials can be used as a filler selected from wood cellulose.

Film samples of polypropylene (PP) and its compositions with cellulose (30 weights. %) (PP-Cel) (a thickness 80-100 microns) have been placed in the soil made in conformity from GOST 9.060-75 for definition of their stability. Exposition time has made 18 months at T = 25 ± 2 ^{0}C and humidity of 60%. Samples have been washed out and dried up to constant weight for definition of degree of weight loss and their analysis by IR-Fourier spectrometer.

The visual estimation after keeping in soil has shown, that the sample of PP does not undergo any visible changes. Film sample PP-Cel becomes cloudy, and formed on the surface of the lesion focus micromycetes. Number of microcolonies are 7-8 sht/sm2. Under the microscope PP-Cel there is a micromycetes high growth, development as well as their sporulation. As a result of staying in the soil

mass of films of PP remained constant, while the compositions of PP-Cel weight loss was 18% of the original. Analysis of the IR spectra of the samples showed a decrease in the intensity of the bands corresponding to the oxygen-containing groups present in the cellulose spectrum.

Thus, it is shown that the introduction of the synthetic matrix of natural filler increases the rate of mass loss of composite materials in the soil, leading to adhesion micromycetes on the surface and intense films of bacterial growth in the soil through the use of cellulose as a nutrient medium.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОКОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО СВЯЗУЮЩЕГО СОДЕРЖАЩЕГО ПОЛИСАХАРИД ЛЕВАН

Новокупцев Н.В., Ревин В.В.
ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва»,
430005, г. Саранск, ул. Большевистская, 68,
биологический факультет, кафедра биотехнологии

На сегодняшний день существует проблема по получению экологически безопасных композиционных материалов. Традиционная технология включает использование в качестве связующего вещества токсичных синтетических смол. Перспективным направлением является их замена экологически безопасным биологическим связующим содержащим полисахариды микробного происхождения, одним из которых является леван. Природные клеи и адгезивы имеют достаточно высокую себестоимость. Поэтому биологическое связующее было получено на основе отходов пищевой промышленности. При изготовлении биокомпозиционных материалов использовали фракцию лигноцеллюлозного сырья и биосвязующего. В результате проведения испытаний по физико – механическим параметрам было установлено, что предел прочности при статическом изгибе материалов, полученных в результате 10 минут прессования составил 21-52 МПа, при 7 минутах – 31-36. Предел прочности при растяжении перпендикулярно пласти плиты: 0,45-0,64 МПа. При использовании мелкоизмельченной соломы прочность составила 14 МПа, ультрадисперсной древесины – 21-24 МПа. Водопоглощение биоматериалов на основе древесных опилок и ультрадисперсной древесины составило 7-11 и 6-15%, разбухание по толщине – 14-15 и 8-13%. Все вышеуказанные значения соответствуют требованиям стандарта (ГОСТ 10632-2007). В связи с этим можно констатировать, что левансодержащее связующее можно использовать при получении биокомпозиционных материалов, которые могут найти широкое применение: от дешевых утеплителей до дорогих панелей для автомобилей. Полученные нами биоматериалы можно в перспективе внедрять в производство, тем самым сделав большой шаг в развивающейся молодой науке – строительной биотехнологии и ”открыть окно” в будущее новых экологически безопасных материалов.

TECHNOLOGY FOR PRODUCING BIO-COMPOSITE MATERIALS WITH ENVIRONMENTALLY SAFE BIOLOGICAL BINDER CONTAINING POLYSACCHARIDE LEVAN

Novokuptsev N.V., Revin V.V.
Federal State Educational Institution of Higher Professional Education "Mordovia N.P.Ogareva State University", 430005, Saransk, st. Bolshevik, 68, Department of Biology, Department of Biotechnology

To date, there is a problem to obtain an environmentally friendly composite materials. Conventional technology involves the use of a toxic binder resin. One promising avenue is to replace them with environmentally safe biological links containing polysaccharides of microbial origin, one of which is levan. Natural glues and adhesives have a high cost. Therefore biological link was derived from food industry wastes. In the manufacture of bio-composite materials using a fraction of lignocellulosic materials and bio-binder. As a result of the tests on the physical – mechanical parameters was found that the limit of flexural strength of materials derived from 10 minutes of pressing was 21-52 MPa, 7 minutes – 31-36. The tensile strength perpendicular to the plastic plate: 0,45-0,64 MPa. When using finely ground straw strength was 14 MPa, ultra wood – 21-24 MPa. Water absorption of biomaterials based on sawdust and wood ultra was 7-11 and 6-15%, swelling in thickness – 14-15 and 8-13%. All the above values correspond to standard (State standart 10632-2007). In this regard, we can say that levancontain binder can be used for obtaining bio-composite materials that can be widely used from cheap to expensive insulation panels for cars. Biomaterials can be obtained by us in the future to implement in production, thus making a big step in developing young science – building biotechnology and "open" to the future of new environmentally friendly materials.

ВЛИЯНИЕ СРОКОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЗЕЛЕНЫХ ПРОТОКОККОВЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА СОДЕРЖАНИЕ ЛИПИДОВ В КЛЕТКАХ

Оразова С.Б., Джокебаева С.А., Карпенюк Т.А., Гончарова А.В., Цуркан Я.С., Утегенова Г.А., Кайрат Б.
Казахский национальный университет им. аль-Фараби, Республика Казахстан г. Алматы пр. Аль-Фараби, 71, корпус №6

Специфика метаболизма представителей микроальгофлоры, связанная с продуцированием метаболитов с ценными для человека свойствами, сделала микроводоросли одним из основных объектов биотехнологии. Важнейшим компонентом живого органического вещества являются липиды, определяющие структурно-функциональные особенности и энергетический потенциал, как клетки, так и организма в целом. У разных микроводорослей, в зависимости от видовой специфики и условий культивирования содержание общих липидов колеблется в широких пределах: от 2 до 44%. В составе липидов выделяют группу соединений – полиненасыщенные жирные кислоты, многие из которых являются незаменимыми для млекопитающих и синтезируются только микроводорослями. Оптимизация получения жирных кислот из микроводорослей в промышленных масштабах тесно связано с условиями культивирования, которые влияют на содержание липидов и состав жирных кислот.

Нами было определено содержание липидов в культурах зеленых протококковых микроводорослей, находящихся в стадии активного роста – 7 дней и начале стационарной фазы – 14 дней культивирования. В опытах с активно растущими и начинающими замедлять рост культурами установлено, что наблюдается динамика в активности не только ростовых, но и ме-

таболических процессов. К примеру, 7-дневная культура Chlorella sp. содержала 12,7±1,1, а 14-дневная всего 7,9±0,7 г липидов на 100 г сухой биомассы, т.е. количество липидов снизилось в 1,6 раза. 11,3±0,9 г липидов на 100 г сухой биомассы обнаружено в клетках 7-дневной культуры Scenodesmus acuminatus, а в 14-дневной культуре -6,7±0,6 г. Обратная картина наблюдалась в культуре Cladophora globulina, где в 7-дневной культуре установлено 4,0±0,8, а в 14-дневной 5,6±0,6 г липидов на 100 г сухой биомассы. В дальнейшем следует установить влияние сроков культивирования на качественный состав липидов.

THE INFLUENCE OF CULTIVATION TIME OF GREEN PROTOCOCCAL MICROALGAE TO LIPID CONTENT IN CELLS

Orazova S.B., Dzhokebaeva S.A., Karpenyuk T.A., Goncharova A.V., Tzurkan Y.S., Utegenova G.A., Kayrat B.
Al-Faraby Kazakh National University
Al-Faraby Ave., 71, No. 6, Almaty, Republic of Kazakhstan

Specific metabolism of microalgoflora related to production of valuable metabolites for human, made one of the main objects of the microalgae biotechnology. Important components of the living organic matter are lipids that define the structural and functional features and energy potential as cells and as a whole organism. The content of total lipids in microalgae varies widely: from 2 to 44%, depending on the species specificity and cultivation conditions. A group of lipid compounds is polyunsaturated fatty acids; many of them are irreplaceable for mammals and are synthesized only in microalgae. Optimization of the fatty acids from microalgae commercially closely linked to cultivation conditions that affect to lipid content and fatty acid composition.

We have defined lipid content in cultures of green microalgae in a state of active growth – 7 days and early steady state – 14 days of cultivation. In experiments with actively growing and beginning of slow growing cultures found that there has been a dynamics of activity not only growth, but also metabolic processes. For example, the 7-day culture of *Chlorella sp*. contain 12.7 ± 1.1 and 14-day total 7.9 ± 0.7 g of lipids for 100 g of dry biomass, i.e. the amount of lipids decreased 1.6 times. 11.3 ± 0.9 g of lipids for 100 g of dry biomass is found in the cells of the 7-day culture of *Scenodesmus acuminatus*, and 14-day culture – 6.7 ± 0.6 g. The opposite has been observed in the *Cladophora globulina* culture where 7-day culture is 4.0 ± 0.8, and 14-day 5.6 ± 0.6 g of lipids for 100 g of dry biomass. In the future, we should specify the influence of cultivation time on the qualitative composition of lipids.

ГЛИКОЗИЛГИДРОЛАЗЫ 61 СЕМЬИ ГРИБА *CHRYSOSPORIUM LUCKNOWENSE* КАК НОВЫЙ КОМПОНЕНТ ФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ БИОКОНВЕРСИИ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОЙ БИОМАССЫ

Проскурина О.В.[1], **Синицын А.П.**[1,2]
[1]*Химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова,*
Москва, 119991, Ленинские горы, 1-11
[2]*Институт биохимии имени А.Н. Баха РАН,*
Москва, 119071, Ленинский проспект, 33-2

Один из самых современных методов переработки лигноцеллюлозной биомассы – ферментативный гидролиз целлюлозы. Простые сахара, получаемые при биоконверсии непищевой биомассы, являются перспективным дешевым сырьем для биотехнологической промышленности.

На сегодняшний день существует ряд промышленных ферментных препаратов, в основе которых лежит смесь эндоглюканаз, β-глюкозидаз, целлобиогидролаз и гемицеллюлаз. Гликозилгидролазы 61 семьи – недавно обнаруженная группа ферментов, не относящихся ни к одному из упомянутых типов гидролаз, способных заметно увеличивать гидролитическую способность целлюлазного комплекса.

Два фермента, относящихся к гликозилгидролазам 61 семьи, были выделены из препарата гриба *Chrysosporium lucknowense* хроматографическими методами. На примере микрокристаллической целлюлозы и измельченной осиновой древесины показано, что выделенные ферменты не обладают высокой гидролитической способностью. Для дальнейших исследований был выбран высокоэффективный целлюлазный препарат на основе гриба *Penicillium verruculosum*. Обнаружено, что добавление в реакционную смесь гликозилгидролаз 61 семьи из *Chrysosporium lucknowense* повышает эффективность гидролиза микрокристаллической целлюлозы и осиновой древесины в 2 раза. Проведенное исследование показывает, что гликозилгидролазы 61 семьи могут стать важным компонентом эффективного целлюлазного комплекса.

GLYCOSYL HYDROLASES OF FAMILY 61 FROM THE FUNGUS CHRYSOSPORIUM LUCKNOWENSE AS A NEW COMPONENT OF THE ENZYME COMPLEX FOR THE BIOCONVERSION OF LIGNOCELLULOSIC BIOMASS

Proskurina O.V.[1], **Sinitsyn A.P.**[1,2]
[1]*Chemical Department, M.V. Lomonosov Moscow State University,*
Moscow, 119991, Leninskiye Gory, 1-11
[2]*A.N. Bach Institute of biochemistry RAS,*
Moscow, 119071, Leninsky prospect, 33-2

One of the most modern methods of processing of lignocellulosic biomass – enzymatic hydrolysis of cellulose. Monosaccharides, obtained with bioconversion of non-food biomass, are perspective cheap raw materials for the biotechnology industry.

For today, there are a number of industrial enzyme preparations, which are based on a mixture of endoglucanases, β-glucosidases, cellobiohydrolases and hemicellulases. Glycosyl hydrolases of 61 family – a recently discovered group of enzymes that are not belong to any mentioned types of hydrolases, which could appreciably increase the hydrolytic ability of the cellulase complex.

Two enzymes belonging to glycosyl hydrolases of 61 family, were isolated from the preparation of the fungus *Chrysosporium lucknowense* by chromatographic methods. By the example of microcrystalline cellulose and milled aspen wood is shown that the allocated enzymes do not have a high hydrolytic capacity. For further research was chosen highly effective cellulase preparation based on of the fungus *Penicillium verruculosum*. Found that the addition to the reaction mixture glycosyl hydrolases of 61 family from *Chrysosporium lucknowense* increases efficiency of hydrolysis of microcrystalline cellulose and aspen wood 2 times. The study shows that glycosyl hydrolases of 61 family can become an important component of the effective cellulase complex.

СИНТЕЗ БУТАНОЛА ШТАММОМ C. *ACETOBUTYLICUM* НА АЛЬТЕРНАТИВНЫХ СУБСТРАТАХ

Шульга С.М., Тигунова Е.А
ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики» НАН Украины,
Киев, ул. Осиповского, 2а, Киев-123, 04123, Украина, тел.: +38 (044) 434-45-77
E-mail: Shulga5@i.ua

Получение новых более продуктивных штаммов микроорганизмов, которые продуцируют бутанол становится насущной и актуальной проблемой. Изучение морфолого-физиологических особенностей выделенных штаммов, отработка условий их культивирования, оптимизация синтеза биобутанола – основные предпосылки для создания экономически выгодного технологического процесса получения биобутанола. Целью данной работы был поиск штаммов-продуцентов биобутанола и масляной кислоты, как предшественника биобутанола и их идентификация. Объектами исследования были микроорганизмы, выделенные из почв и илов водоёмов г. Киева. По результатам скрининга выделенных культур получено три перспективных штамма, которые идентифицированы как *C. acetobutylicum* IFBG C6H*, C. tyrobutyricum* IFBG C4B*, C. butyricum* IFBG C7P. С целью максимального накопления целевых метаболитов были исследованы метаболитические особенности продуцентов. Проведено скрининг полученных культур и отобрано перспективный штамм-продуцент бутанола *C. acetobutylicum* IFBG C6H. При изучении альтернативных субстратов, таких как свекольная меласса, стеблевидное просо, тырса рожкового дерева зафиксировано сдвиг синтеза растворителей в сторону повышения выхода бутанола. Было показано, что на лигноцеллюлозном сырье штамм *C. acetobutylicum* IFBG C6H накапливает бутанол без предшествующей обработки сырья.

SYNTHESIS OF BUTANOL STRAIN C. *ACETOBUTYLICUM* ON THE ALTERNATIVE SUBSTRATES

S. Shulga, O. Tigunova
SO "Institute of Food Biotechnology and Genomics" of NAS of Ukraine,
2a, Osypovskogo str., 04123, Kyiv-123, Ukraine
E-mail: Shulga5@i.ua

Getting new, more productive strains of microorganisms that produce butanol is a topical problem. Studying the morphologo-physiological characteristics of the isolated strains, improvement of the conditions of cultivation in order to butanol biosynthesis optimization gives the possibility to organize a cost-effective butanol production technology. The aim of this work – the search for new butanol and butyric acid producer strains, their identification and studying the main steps of the selective strains biosynthesis. The objects of this study were microorganisms that had allocated from soils and sludges samples of Kiev's lake. Obtained cultures have been screened. Three strains were obtained as promising and identified as *C. acetobutylicum* IFBG C6H*, C. tyrobutyricum* IFBG C4B*, C. butyricum* IFBG C7P. For the microorganisms have been developed and modified selective medium. Obtained cultures were screened and selected promising strain-butanol producing *C. acetobutylicum* IFBG C6H. Studying of alternative substrates, such as beet molasses, switchgrass, carob chips obtained synthesis solvent shift towards increasing the yield of butanol. It has been shown that strain *C. acetobutylicum* IFBG C6H can store butanol without prior processing of raw materials on the lignocellulotic feedstock.

ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ АМИНОКИСЛОТ

Андрияш А.С., Заболотная Г.М., Шульга С.М.
ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики» НАН Украины,
Киев, ул. Осиповского, 2а, Киев-123, 04123, Украина, тел.: +38 (044) 434-45-77
E-mail: Shulga5@i.ua

В современной биотехнологии незаменимых аминокислот постоянно усовершенствуют штаммы-продуценты как традиционными селекционными методами, так и с использованием методов генной инженерии. Цель работы – повышение продуктивности штаммов направленной селекцией продуцентов, с одновременным выбором мутантов-продуцентов лизина и треонина, нахождение мутационных изменений штаммов. Проведено сравнительное сиквенирование микроорганизмов по 16s РНК.

Использованы штаммы *Brevibacterium flavum, Brevibacterium sp. 90, Brevibacterium sp. E-531, Brevibacterium sp. 90 H и Corynebacterium glutamicum* из «Коллекции штаммов микроорганизмов и линий растений для пищевой и сельскохозяйственной биотехнологии» ДГ ИПБГ НАН Украины.

Мутанты получали облучением УФ В бактериальных суспензий продуцентов при комнатной температуре в течение 1-6 минут. Летальную дозу устанавливали в зависимости от интенсивности УФ облучения. Определена интенсивность облучения (1 кДж/м^2), при которой в суспензии от начального количества живих клеток оставалось 0,1-1%.

При отборе мутантов, в качестве селективных маркеров использовали ауксотрофность штаммов к аминокислотам и стойкость к аналогам лизина и треонина.

Полученные мутанты проверяли относительно продуктивности по целевым аминокислотам в периодических условиях культивирования на жидких мелассных средах. Среди штаммов-мутантов обнаружены продуценты с повышенной биосинтетической активностью.

Для подтверждения мутаций у штаммов-продуцентов проведено сиквенирование и расшифровка ключевых генов (*lyz C, hom, pyc, dap A, mgo)* биосинтеза лизина и треонина.

OBTAINING THE HIGH-PRODUCING STRAINS OF AMINO ACIDS

Andriiash G., Zabolotnaya G., Shulga S.
SO "Institute of Food Biotechnology and Genomics" of NAS of Ukraine,
2a, Osypovskogo str., 04123, Kyiv-123, Ukraine
E-mail: Shulga5@i.ua

Constantly improving of strains producer by traditional breeding methods and using genetic engineering techniques in modern biotechnology of essential amino acids. Improving the productivity of strains producing by direct selection, while the choice of mutants producing lysine and threonine, finding mutational changes strains was the aim of this work.

The comparative sequence by 16s RNA of microorganizms was made.

The cultures of *Corynebacterium glutamicum, Brevibacterium flavum, Brevibacterium sp. 90, Brevibacterium sp. 90 H and Brevibacterium sp. E-531* from the «Collections of cultures of microorganisms and plant lines for the food and agricultural biotechnology» of SO "Institute for Food Biotechnology and Genomics, NAS of Ukraine" were used.

Mutants were received by UV "B" irradiation of bacterial suspension at room temperature during 1-6 minutes. The lethal dose adjusted according to the intensity of UV radiation. The intensity

of irradiation (1 kJ/m2) in which the suspension of the initial number of cells remained 0.1-1% was determined.

Strains auxotrophy of amino acids and resistance to analogs of lysine and threonine as selective markers were used.

Mutants obtained according of relative productivity on the target amino acids in periodic cultivation conditions were tested on liquid molasses media. Producers with increased biosynthetic activity for mutants were found.

Sequencing and interpretation of key genes (lyz C, hom, pyc, dap A, mgo) biosynthesis of lysine and threonine for the confirmation of mutations producing strains were performed.

ОЧИСТКА ГАЗОВОЗДУШНЫХ ВЫБРОСОВ В ПРОЦЕССЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

Приемов С.И., Шульга С.М.
ГУ «Институт пищевой биотехнологии и геномики» НАН Украины,
Киев, ул. Осиповского, 2а, Киев-123, 04123, Украина, тел.: +38 (044) 434-45-77
E-mail: Shulga5@i.ua

Газовоздушные выбросы из технологического оборудования на предприятиях с процессом микробиологического синтеза (ферментеры, дрожжерастильные аппараты и др.) содержат высокодисперсные микробные аэрозоли (медианный диаметр 7-11 мкм) с высокой концентрацией (до 0,6-1,6*10^6клеток в 1м^3 при норме 5*10^3 клеток в 1м^3). Дополнительные меры интенсификации процесса капельного вращающегося потока с улавливаемыми микробными аэрозолями потребовались для эффективного улавливания частиц микробного аэрозоля четвертой группы дисперсности.

Для интенсификации вращающегося потока были использованы генераторы турбулентности (плохообтекаемые тела), которые на порядок повышали интенсивность турбулентности газового потока в зоне контактирования. При этом повышалась эффективность улавливания частиц микробного аэрозоля до требуемого уровня.

Так, в форсуночном центробежном скруббере «СЦП-20» производительностью по очищаемому газу 20 тыс. м^3/ч при установке генератора турбулентности в зоне контактирования вращающегося воздушного потока с капельным аэрозолем конечная концентрация микробных аэрозолей составила 1,0-3,6*10^3 клеток в 1м^3. Эффективность очистки от микроорганизмов (рассчетная) составила 99,45% (экспериментальная 85%) при величине удельного орошения 0,3-0,5 кг/м^3 и гидравлическом сопротивлении 1-1,2 кПа. Засорение форсунки микрофлорой, развивающейся в циркулирующей жидкости, устранялось введением антисептика и периодической продувкой форсунок паром, что облегчало эксплуатацию в зимний период.

Эффективная система очистки с использованием генераторов турбулентности была установлена на ферментерах при производстве кормовых дрожжей на предприятиях спиртовой и гидролизной промышленности, а также на при производстве лимонной кислоты.

CLEANING THE GAS EMISSIONS OF MICROBIOLOGICAL SYNTHESIS

Priyomov S., Shulga S.
SO "Institute of Food Biotechnology and Genomics" of NAS of Ukraine,
2a, Osypovskogo str., 04123, Kyiv-123, Ukraine, E-mail: Shulga5@i.ua

Gas emissions from process equipment at the process of microbial synthesis contain a highly-microbial aerosols (median diameter 7.11 μm) with a high concentration (up to 0,6-1,6*10^6 cells in 1m^3 at a rule 5*10^3 per 1m^3). Additional measures of process intensification drip rotating flow picks microbial aerosols required for trapping efficiency of the fourth group.microbial aerosol dispersion

Turbulence generators (bluff body), which are much increased turbulence intensity of the gas flow in the area of contact were used for intensify the rotating flow. Trapping efficiency of microbial aerosol was increased to the required level under these conditions.

So, in a jet centrifugal scrubber "СЦП-20" the performance purifies gas up to 20 thousand m^3/h during the installation of the generator of turbulence in the area of contact with the rotating air stream spray droplets final concentration of microbial aerosols was 1,0-3,6*10^3 cells in 1m^3. Efficient removal of microorganisms was 99.45% (calculated) and 85% (experimental) at the value of the specific irrigation – 0.3-0.5 kg/m^3 and hydraulic resistance – 1-1.2 kPa.

Clogged nozzles microflora develops in the circulating liquid was eliminated by introducing antiseptic and blowdown steam injector, which facilitated the operation in winter.

An effective cleaning system with turbulence generators were installed on the production of food fermenting yeast by alcohol companies and hydrolysis industries, as well as in the production of citric acid.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРЕРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Смирнова В.Д., Червякова О.П., Шубукина Е.В., Кареткин Б.А., Шакир И.В., Панфилов В.И.
Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева,
125047, г. Москва, Миусская площадь, д. 9, кафедра биотехнологии.

Повышение эффективности использования растительного сырья является приоритетным направлением развития биотехнологии.

В рамках данной тематики на кафедре биотехнологии РХТУ им. Д.И. Менделеева ведутся работы по комплексной переработке соевого, подсолнечного шрота, топинамбура, а также отходов производства кофе и соевого белка.

Среди возможных вариантов интенсификации процессов биоконверсии используемых источников апробированы способы предварительной обработки сырья с целью доизвлечения ценных компонентов. Так, при переработке кофейного шлама предложена схема, базирующаяся на экстракции ацетоном масла из кофейного шлама и дальнейшей микробной конверсии вторичного отхода в кормовой белковый продукт. При использовании клубней топинамбура предложен вариант ультразвуковой экстракции инулина с последующей переработкой вторичного отхода в пробиотический кормовой продукт на основе молочнокислых бактерий.

Другим возможным способом повышения эффективности биоконверсии отходов является использование пероксида водорода в качестве агента окислительного стресса, который в определенных условиях может стимулировать рост и биосинтетическую активность микроорганизмов. Так, при переработке соевой мелассы в белковый кормовой продукт с использованием микроорганизмов *Endomycopsis fibuligera,* а также *Rhodotorula rubra* в значительной степени улучшаются технологические характеристики продуцентов белка и каротиноидов, соответственно.

Предложенные способы интенсификации позволяют существенно повысить эффективность использования растительной биомассы и тем самым рентабельность производства.

INCREASE OF EFFICIENCY OF RAW MATERIALS PROCESSING

Smirnova V.D., Chervyakova O.P., Shubukina E.V., Karetkin B.A., Shakir, I.V., Panfilov V.I.
D. Mendeleev University of Chemical-Technological of Russia,
125047, Moscow, Miusskaya Square 9, the Department of Biotechnology

Improving of the efficiency of processing of vegetable raw materials is a priority in the development of biotechnology.

As a part of this subject the Department of Biotechnology of D.I. Mendeleev University of Chemical-Technological of Russia is working on a complex processing of soybean and sunflower meal, artichoke, coffee pulp and the waste of soy protein production.

Among the possible methods approved pretreatment methods of intensification of bioconversion of the sources in order to recovery of valuable components. Thus, the coffee pulp processing describe scheme based on the acetone extraction of oil, and processing of secondary wastes into the feed protein product by microbial bioconversion. During the processing of Jerusalem artichoke tubers offered the option of ultrasonic extraction of inulin with the subsequent processing of waste into the probiotic product for animals containing lactic acid bacteria.

Another possible option for increasing efficiency of processing of waste is the use of hydrogen peroxide as an agent of oxidative stress, which in certain conditions can promote growth and biosynthetic activity of microorganisms. Thus, the processing of soy molasses into the protein feed product using microorganisms *Endomycopsis fibuligera*, and *Rhodotorula rubra* managed greatly improve the processing characteristics of protein and carotenoids production respectively.

Proposed methods can significantly increase the intensification of utilization of plant biomass and the rentability of manufacture.

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК ИЗ БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОМАССЫ *METHYLOCOCCUS CAPSULATUS*

Тимошенко К.А., Красноштанова А.А.
Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева
125047, г. Москва,Миусская пл., д. 9.

Одной из актуальных проблем современности является неблагоприятное действие факторов окружающей среды, отрицательно влияющих на иммунную систему и вызывающих иммунодефициты. Одним из основных способов поддержания нормального функционирования иммунной системы и восстановления иммунитета является применение иммуномодуляторов – природных и синтетических веществ, причем в настоящее время широкое применение нашли иммуномодуляторы на основе нуклеиновых кислот и их производных. Поэтому сейчас большое внимание уделяется разработке альтернативных путей получение нуклеиновых компонентов, например, из природного сырья – ДНК из клеток микроорганизмов и тканей животных.

В данной работе было проведено сравнение эффективностей экстракции НК из бактериальной биомассы Methylococcus capsulatus– нативной и освобожденной от липидной фракции. На первом этапе было изучено влияние на данный процесс продолжительности экстракции и

концентрации хлоридов калия, кальция и двузамещенного ортофосфата аммония. Было установлено, что максимальный выход ДНК в экстракт достигается при концентрации хлорида калия 3 г/л и времени процесса 3,5 ч и 2,5 ч соответственно для нативной и освобожденной от липидной фракции биомассы.

В результате проведенных исследований было также отмечено, что выделение из биомассы ДНК сопровождается экстракцией РНК. Для разделения смеси ДНК и РНК был выбран метод ультрафильтрации. При последующем осаждении в изоэлектрической точке был получен осадок ДНК, содержащий 10% примесной РНК в случае использования в качестве экстрагента хлорида калия и 1% РНК при использовании двузамещенного ортофосфата аммония.

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что оптимальным экстрагентом для выделения ДНК из биомассы бактерий Methylococcus capsulatus является двузамещенный фосфат аммония с концентрацией 1,8-2,0 моль/л. При этом удается получить препарат ДНК практически свободный от примесной РНК.

INVESTIGATION OF THE PROCESS OF DNA EXTRACTION FROM BACTERIAL BIOMASS *METHYLOCOCCUS CAPSULATUS*

Timoshenko K.A., Krasnoshtanova A.A.
D.Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia,
125047, Miusskaya Sq., 9.

One of the pressing issues of today is the adverse effect of environmental factors affecting the immune system and cause immunodeficiencies. One of the main ways to maintain the normal function of the immune system and to reconstruct immune is the use of immunomodulators – natural and synthetic substances, and is now widely applied immunomodulators based on nucleic acids and their derivatives. So now a lot of attention paid to the development of alternative ways of obtaining nucleic components, such as from natural resources – the DNA from the cells of microorganisms and animal tissues.

In this article, we compared the efficiency of extraction of bacterial biomass nucleic components *Methylococcus capsulatus*-native and liberated from the lipid fraction. In the first stage we studied the effect of the duration of the process of extraction and concentration of potassium chloride, calcium chloride and dibasic ammonium phosphate. It was found that the maximum yield of DNA in the extract obtained at a concentration of potassium chloride 3 g /l if the process time was 3.5 hours for the native biomass and 2.5 hours for liberated from the lipid fraction.

The studies also noted that the allocation of DNA from biomass followed by extraction of RNA. To separate the mixture of DNA and RNA was chosen method of ultrafiltration. In the subsequent deposition of the isoelectric point was obtained DNA pellet, containing 10% of the impurity in the case of RNA used as extractant of potassium chloride and 1% RNA using dibasic ammonium phosphate.

Thus, the results of studies have found that the best extractant for DNA extraction from bacterial biomass Methylococcus capsulatus is dibasic ammonium phosphate at a concentration of 1.8-2.0 mol / g. Thus possible to obtain DNA preparation is virtually free from the impurity of RNA.

ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ С ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ПРИ ИНДУКЦИИ БИОСИНТЕЗА ЛАККАЗЫ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *TRAMETES HIRSUTA*

Васина Д.В.[1], **Логинов Д.С.**[1], **Мустафаев О.**[2], **Голденкова-Павлова И.В.**[3], **Королева О.В.**[1]
[1]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. Н.А. Баха РАН, Москва 119071 Ленинский проспект, дом 33, стр. 2.;*
[2]*Разработчик программного обеспечения, Баку;*
[3]*Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, 127550, ул. Тимирязевская, 49.*

Базидиальные грибы – возбудители белой гнили, обладают уникальным ферментным комплексом, позволяющим им эффективно разрушать и минерализовать лигнин. Одним из ключевых ферментов данного комплекса является лакказа (КФ 1.10.3.2), относящаяся к семейству медьсодержащих оксидаз. Для эффективного использования лакказ в промышленных целях необходимо создание рекомбинантных штаммов-продуцентов с высоким выходом фермента, что требует знаний метаболических путей его синтеза и регуляции. Целью данной работы является поиск генов-кандидатов, вовлеченных в биосинтез лакказы базидиального гриба *Trametes hirsuta*, на основе сравнительного анализа транскриптомов с использованием современных методов.

Проведен сравнительный анализ транскриптов, полученных из образцов базидиального гриба *T. hirsuta*, культивируемых на средах в присутствии или отсутствия индуктора биосинтеза лакказ, методами вычитающей гибридизации и широкоформатного параллельного секвенирования. В результате анализа данных широкоформатного глубокого секвенирования образцов было выявлено 409 уникальных транскриптов для образца исследуемого гриба-продуцента после индукции $CuSO_4$, а также 337 уникальных транскриптов – для образца, культивируемого без индукции $CuSO_4$. Отобраны уникальные транскрипты, относительный уровень экспрессии которых значительно увеличивается при индукции биосинтеза лакказы у исследуемого гриба-продуцента, и которые могут быть генами-кандидатами, продукты которых вовлечены в биосинтез этого фермента.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований, грант № 11-04-01349а.

IDENTIFICATION OF GENES WITH DIFFERENTIAL EXPRESSION UNDER INDUCTION OF LACCASE BIOSYNTHESIS IN WHITE-ROT FUNGI *TRAMETES HIRSUTA*.

D.V.Vasina[1], **D.S.Loginov**[1], **O. Mustafaev** [2], **I.V. Goldenkova-Pavlova** [3], **O.V. Koroleva**[1]
[1]*A.N. Bach Institute of biochemistry of Russian Academy of Sciences, Leninsky prospekt, 33, build. 2; 119071, Moscow, Russian Federation;*
[2]*Software developer, Baku;*
[3]*Russian State Agrarian University – MTAA named after K.A.Timiryazev, Timiryazevskaya Str., 49, 127550, Moscow, Russian Federation.*

White-rot fungi have the apparently unique ability to degrade and modify lignin due to production of extracellular oxidative enzymes. One of the key enzymes of fungal lignolytic complex is considered to be laccase (EC 1.10.3.2) which belongs to the family of copper-containing oxidases. For efficient industrial application of laccases it is necessary to create recombinant strains producing a high yield

of the target enzyme. The achievement of this objective the knowledge of the metabolic pathways and the regulation of laccase biosynthesis in native laccase strain-producer is required. The present study is focused on identification of candidate genes involved in laccase biosynthesis in the fungus *Trametes hirsuta*, based on a comparative transcriptome analysis using modern techniques.

A comparative analysis of transcripts obtained from *T. hirsuta* samples (biomass) after cultivation on the media containing laccases biosynthesis inducer and without inducer. The analysis was carried out using methods of suppression subtractive hybridization and massively parallel sequencing. The 409 and 337 unique transcripts were revealed in *T. hirsuta* samples obtained after cultivation on the media containing laccases biosynthesis inducer ($CuSO_4$) and without inducer respectively as a result of the massively parallel sequencing data analysis. The unique transcripts with significant increase of relative expression level in the sample with laccase biosynthesis induction were selected. They are proposed to be the candidate genes which products are involved in biosynthesis of the enzyme.

This work was supported by Grant of Russian Foundation for Basic Research, grant N 11-04-01349-a.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ПОЛУЧЕНИЕ БИОБУТАНОЛА НА ФЕРМЕНТАЛИЗАТАХ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Афонин А.В., Буторова И.А., Давидов Е.Р., Молчан В.М.
Восточно-Сибирский комбинат биотехнологий, г. Тулун

Технология получения бутанола, ацетона и этанола методом ацетоно-бутилового брожения с использованием бактерии рода *Clostridium acetobutylicum* не имеет недостатков, присущих химическому синтезу и находит широкое применение. В качестве сырья обычно используют глюкозу сахарного тростника, свеклы, кукурузы, пшеницы, маниоки, т.е. пищевое сырье. В то же время ежегодно на нашей планете образуется около 200 млрд. т растительной целлюлозосодержащей биомассы. При этом примерно три четверти в процессе переработки превращается в непищевые отходы, использование которых для получения биотехнологических продуктов является важной экономической и экологической задачей.

Исследованы образцы субстратов, полученных в результате ферментативного гидролиза растительного сырья по технологии, разработанной в ОАО«ГосНИИсинтезбелок»: ферментолизаты осины, багассы и сосны (с предварительно удаленными смолистыми веществами). Проверена возможность усваивать культурой бактерий *Clostridium acetobutylicum* отдельные углеводы, входящие в состав ферментолизатов: глюкозу, манозу и ксилозу. Установлено, что все данные моносахариды могут сбраживаться бактериями с получением бутанола. При сбраживании манозы и ксилозы выход продукта ниже, чем при использовании глюкозы: для манозы выход составил 22-24%, для ксилозы – 15-16%.

Показано, что ферментолизаты осины, багассы, сосны могут использоваться для получения бутанола в периодическом процессе. При этом выход целевого продукта через 48 часов брожения несколько ниже по сравнению с чистым глюкозным субстратом и составляет 15, 17 и 18% от исходного количества редуцирующих веществ в ферментолизатах для осины, багассы и сосны соответственно. Остаточное содержание редуцирующих веществ в культуральной жидкости составляло от 5 до 10% от исходного количества.

BIOBUTANOL OBTAINING FROM ENZYMATIC TREATED PLANT MATERIALS

Afonin A.V., Butorova I.A., Davidov E.R., Moltchan V.M.
OC East-Siberian combine of biotechnologies, Tulun.

Technology of butanol, acetone and ethanol production by using *Clostridium acetobutylicum* bacteria has not disadvantages of chemical synthesis and is widely used. The raw materials are usually use glucose of sugar cane, sugar beet, corn, wheat, cassava, i.e. food raw materials.

At the same time each year on the planet formed about 200 billion tons of cellulosic biomass plant. Nearly three-quarters transforms during this biomass processing into a non-food wastes that is why the use of them for biotech products is an important economic and environmental challenge.

Samples of substrates, obtained by enzymatic hydrolysis of aspen, pine and bagasse material (according to technology developed by JSC "GosNIIsintezbelok") were investigated. Additionally was checked the possibility of *Clostridium acetobutylicum* to assimilate the separate carbohydrates: glucose, xylose and mannose, which are containing in the complex of enzymatically processed raw material. It was found that all above-named monosaccharides can be assimilated by bacteria to produce butanol. In case of mannose and xylose using for fermentation the effectiveness of biosynthesis is slightly lower than in case of glucose. The yield for mannose is about 22-24%, for xylose is 15-16%.

It was shown that enzymatically processed aspen, bagasse and pine wastes can be used for butanol production in a periodic process. The yield of the desired product after 48 hours of fermentation is somewhat lower compared to fermentation using pure glucose substrate and is 15, 17 and 18% from initial amount of reducing substances in enzymatically processed raw materials of aspen, pine and bagasse, respectively. The residual amount of reducing substances in the culture fluid ranged from 5 to 10% of the initial level.

СОРБЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЕ БУТАНОЛА ИЗ РАСТВОРОВ

Афонин А.В., Горшенев В.Н., Гарибян Ц.С., Диесперов К.В., Мельников В.П.
Восточно-Сибирский комбинат биотехнологий. Г. Тулун

Проблема извлечения органических соединений из культуральных сред при необходимости поддерживать низкую концентрацию метаболитов, подавляющих биосинтез целевого продукта весьма актуальна. Для сорбции спиртов из культуральных сред созданы пористые материалы модифицированные полимерами для формирования гидрофобных покрытий.

Пористые образцы бумаги обрабатывались кремнийорганическими жидкостями, политетрафторэтиленом и полипирролом. Полимеризация полипиррола на поверхности пористых образцов, пропитанных раствором хлорида железа, осуществлялась, в атмосфере пиррола, а также в сверхкритическом диоксиде углерода (СК-CO_2). Плёнки из фторопласта -32Л (сополимер трифторхлорэтилена и фторвинилидена) получали из раствора в ацетоне и для создания пор модифицировали в сверхкритическом СК-CO_2. Другой способ формирования пор в гидрофобной композиции заключался в прессовании фторопласта-32Л с графитами, модифицированными кислотами, с последующим терморасширением композиций и образованием пор в полимер-графитовых образцах за счёт выделения газов из терморасширяющихся интеркалированных графитов. Предварительные исследования выявили перспективность применения новых сорбентов для селективного выделения органических растворителей из культуральных сред.

SORBENTS FOR BUTANOL SORPTION FROM SOLUTIONS

Afonin A.V., GorchenevV.N., GaribianTc.S., Diesperov K.V., Melnikov V.P.
OC East-Siberian combine of biotechnologies. Tulun

For sorption of alcohols from culture media were created different porous by polymers modified materials for to form a hydrophobic coating. Preliminary studies have shown perspective of new sorbents using for organic solvents selective isolation from water solutions.

ИЗМЕНЕНИЕ ДИНАМИКИ АКТИВНОСТИ ЭКЗОЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ ФЕРМЕНТОВ ASPERGILLUS TERREUS ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Аникина Н.А., Григорьева Е.Н., Кряжев Д.В., Смирнов В.Ф.
Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского,
603950, г. Нижний Новгород, пр. Гагарина, д. 23

Проблема микробиологической деградации полимерных материалов имеет важное хозяйственное значение. С одной стороны микроорганизмы оказывают негативное воздействие на промышленные материалы, используя их в качестве источников питания, и в этом случае, возникает необходимость создания биостойких материалов. С другой стороны возникает необходимость в биоутилизации техногенных отходов, и в этом случае, встает задача по получению биоразлагаемых материалов. В связи с этим, важное значение имеет исследование физиолого-биохимических особенностей микроорганизмов – биодеструкторов. Целью настоящей работы являлось исследование активности экзоцеллюлярных ферментов (каталаза, пероксидаза, целлюлаза) гриба *Aspergillus terreus* – одного из активных биодеградантов промышленных и строительных материалов. Анализ результатов по динамике активности ферментов показывает, что активность пероксидазы и каталазы *A. terreus* на обедненной питательной среде (ОПС) начинает проявляться уже на 7 сутки, и достигает максимума на 13 сутки. А в условиях культивирования гриба на полной питательной среде (ППС) активность пероксидазы и каталазы начинает проявляться на 5 сутки, а максимального значения достигает на 7 сутки.

Кроме этого нами исследовалась экзоцеллюлярная ферментативная активность гриба A. terreus под воздействием высоких температур. Было показано, что высокая температура (60°C) вызывает резкое уменьшение зэкзоцеллюлазной активности в 6 раз. Иная картина наблюдалась в экспериментах с мицелием, выращенным из спор, подвергшихся воздействию температуры, в данном случае высокая температура повышает активность экзоцеллюлаз в 2 раза. Причинами таких результатов могут являться различия в химическом составе и структурной организации спор и мицелия гриба, высокая температура может воздействовать на различные биохимические компоненты, что в одном случае приводит к активации целлюлазной активности, а в другом к ее ингибированию.

THE CHANGE OF THE DYNAMICS OF THE EXOCELLULAR ENZYMES ACTIVITY OF ASPERGILLUS TERREUS UNDER VARIOUS CULTIVATING CONDITIONS

Anikina N.A., Grigorieva E.N., Kryazhev D.V., Smirnov V.F.
Nizhny Novgorod State University of Lobachevsky N.I.,
603950, Nizhny Novgorod, Gagarin Avenue, 23

The problem of microbial degradation of polymeric materials has great economic importance. On the one hand, the microorganisms have a negative impact on industrial materials, using them as

sources of food, and in this case, there is a need for a biopersistent materials. On the other hand, there is a problem how to utilizate industrial wastes, and in this case, it is nesessary to obtain biodegradable materials. In this regard, it is important to study physiological and biochemical characteristics of microorganisms-biodestructors. The aim of this study was to investigate the exocellular enzymes activity (catalase, peroxidase, cellulase) of the fungus Aspergillus terreus – one of the active destructor of industrial materials. Analysis of the results of the enzyme activity dynamics shows that the A. terreus peroxidase and catalase activity in depleted culture medium (DCM) begins to manifest itself on the 7th day, and reaches a maximum of 13 hours. And when the fungus is grown in complete culture medium (CCM), the activity of peroxidase and catalase becomes noticeable on the 5th day, and the maximum activity of the enzymes is reached on the 7th day.

In addition we investigated exocellular enzymatic activity of the fungi A. terreus under high temperatures. It has been shown that the high temperature (60 ° C) decreased sharply exocellular activity in 6 times. A different pattern was observed in experiments with mycelium grown from spores and exposed to high temperature. In this case, the heat increases the exocellular activity in 2 times. The reasons for these results may be the differences in the chemical composition and structural organization of the spores and mycelium. The heat can affect different biochemical processes, in one case leading to the activation of the enzyme activity, and in the other to its inhibition.

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ КОМПЛЕКСА ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ И ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ В ТЕХНОЛОГИИ ВЫРАЩИВАНИЯ КАРТОФЕЛЯ

Бородай В.В.
Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, ул. Героев Обороны, 15, Киев, 03041, Украина

Исследования влияния биопрепаратов на микрофлору почвы, изменение качественного и количественного состава микробиоты при выращивании картофеля в Украине носят фрагментарный характер и являются актуальными. В России для обработки картофеля широко используется препарат Планриз, однако в Украине Планриз БТ (на основе штамма *Pseudomonas fluorescence* АР-33) рекомендован только для обработки зерновых, кукурузы и виноградников. Исследования проводили на опытных участках Института картофелеводства НААН Украины, где выращивался картофель (сорт Обериг и Скарбница). Применение биопрепаратов Фитоцида и Планриза привело к увеличению общего количества бактерий в почве по сравнению с контролем на 13,0 -36,1% при выращивании картофеля сорта Скарбница и на 4,5-24,6% – картофеля сорта Обериг. Кроме того, в 1,2-1,8 раза уменьшилось количество фитопатогенных грибов родов *Fusarium* и *Alternaria,* что возможно связано с увеличением численности сапрофитных микроорганизмов, которые способны эффективно конкурировать с фитопатогенами. Уменьшение количественного и качественного состава почвенной микрофлоры привело к изменению структуры микробиоценозов почвы и появлению новых доминирующих морфотипов. Количественный и родовой состав почвенных бактерий и грибов был наиболее высоким в почве при обработке картофеля биопрепаратами. При использовании химического препарата Ровраль Аквафло наблюдалось снижение видового многообразия микроорганизмов, доминирование тёмно-окрашенных микомицетов – *Alternaria sp.,* Cladosporium sp., *Phoma sp., Doratomyces sp.* и пигментообразующих бактерий. По сравнению с использованием биопрепаратов и контролем индекс видового многообразия Шеннона при использовании Ровраль Аквафло был соответственно 1,46-1,88 по сравнению с 2,04-2,24, а индекс выравненности Пиелу – 0,63-0,79 по сравнению с 0,83 - 0,91.

CHANGING THE STRUCTURE OF THE COMPLEX OF SOIL BACTERIA AND PHYTOPATHOGENIC FUNGI AT USING MICROBIAL PREPARATION IN THE GROWING TECHNOLOGY OF POTATO

Borodai V.V.
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
15, Geroiv Oborony str., Kyiv, Ukraine

The research of influence of biological preparations on soil microflora, the changes of qualitative and quantitative microbiotes structure during potato cultivation in Ukraine have fragmentary character and are relevant. In Russia the biopreparation Planryz is widely used for potato treatment, but in Ukraine Planryz BT (based on the bacterial strain *Pseudomonas fluorescence* AR-33) is recommended only for grain, corn and on vineyards. Research was carried out on experimental plots of NAAS Institute for Potato Research where potato (cultivars Oberig and Skarbnitsa) was grown. The application of Phytotsid and Planriz promoted the total increase in saprophyte bacteria number in soil in comparison with control by 13,0-36,1% at cultivation of potato cv.Skarbnitsa and by 4,5 - 24,6% – of cv. Oberig.

In addition, the quantity of phytopathogenic fungi such as *Fusarium* and *Alternaria* has decreased in 1,2-1,8 times that is probably related to the increase of the number of saprophyte microorganisms which are capable to effective competition with phytopathogens. Reduction of quantitative and qualitative structure of soil microflora has led to changes in microbiocenoses composition of soil and occurrence of new dominant morphotypes.

The quantitative and species structure of soil bacteria and fungi was the highest in soil where potato was treated by biological preparations. At the application of chemical preparation Rovral Akvaflo reduction of the specific variety of microorganisms was observed, besides the domination of dark-painted mycomyces – *Alternaria sp., Cladosporium sp., Phoma sp., Doratomyces sp*. and chromogenic bacteria was represented. In comparison with other variants of experiment the Shannon index in this case was 1,46-1,88 against 2,04 - 2,24, and an index of uniformity of Pielou – 0,63-0,79 against 0,83 - 0,91.

К ВОПРОСУ О СОХРАНЕНИИ МИКРОБНОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ

Ботина С.Г., Гагарина Е.Ю., Яшина В.Н.
ОАО «ГосНИИсинтезбелок»,
109004, г. Москва, ул. Александра Солженицына, 27
E-mail: svetabotina@yahoo.com

Благодаря научным достижениям микробиологии и генной инженерии стало возможным получение высокотехнологичных штаммов микроорганизмов продуцентов антибиотиков и других биологически активных веществ. При этом неотъемлемым компонентом фундаментальной базы любой биотехнологической разработки являются коллекции микроорганизмов, которые гарантируют сохранение ресурсов микробного разнообразия и делают их доступными для использования в научных и прикладных целях. Коллекция микроорганизмов ГНЦА, имеющая статус международного органа по депонированию для целей патентной процедуры и зарегистрированная в Указателе Международной Федерации Коллекций Культур (WFCC) под акронимом RIA ("The Russia Research Institute for Antibiotics Culture Collection") с номером WDCM 337, и права на осуществление деятельности в связи с прекращением существования ФГУП ГНЦА в целях обеспечения сохранения биологических коллекций для развития биотехнологической отрасли РФ переданы ОАО «ГосНИИсинтезбелок» ГК Ростехнологии.

Государственная коллекция микроорганизмов продуцентов антибиотиков и других биологически активных веществ ОАО «ГосНИИсинтезбелок» включает около 2000 штаммов, относящихся к различным таксономическим группам и используемых как в НИР, так и в качестве продуцентов на промышленных предприятиях, а также при разработке новых биотехнологий. В настоящее время ведутся подготовительные работы для осуществления мероприятий по депонированию, изучению таксономии и физиологии поддерживаемых микроорганизмов, хранению и распространению штаммов непатогенных микроорганизмов, использующихся в исследовательских и прикладных целях. Обновленный каталог микроорганизмов коллекции будет размещен на сайте организации в ближайшее время.

TO A QUESTION OF PRESERVATION OF A MICROBIAL GENETIC VARIETY

Botina S.G., Gagarina E.Yu., Yashina V.N.
Ltd "GosNIIsintezbelok"
27, Alexander Solzhenitsyn str. Moscow 100004
E-mail: svetabotina@yahoo.com

In result of scientific achievements of microbiology and genetic engineering become possible a receiving hi-tech strains of microorganisms of producers of antibiotics and other biologically active agents. At the same time important component of fundamental base of any biotechnological development are collections of microorganisms which guarantee preservation of resources of a microbic variety and make them available for use in the scientific and applied purposes.

Collection of microorganisms The state scientific center on antibiotics having the status of the international organ to deposition for purpose to patent procedure. It registered in the Index of the International Federation of Cultures of Collections (WFCC) under an acronym of RIA ("The Russia Research Institute for Antibiotics Culture Collection") with number WDCM 337. Because of Federal State Unitary Enterprise GNTsA stopped scientific work all rights to carry out was transferred by Ltd GosNIIsintezbelok of group of companies for ensuring preservation of biological collections for development of biotechnological branch of the Russian Federation

The state collection of microorganisms of producers of antibiotics and other biological active agents of Ltd GosNIIsintezbelok includes about 2000 strains relating to various taxonomical groups. The collection used both in NIR, and as producers at the industrial enterprises, and also when developing new biotechnologies.

At present a preparatory work is continued for implementation of actions for deposition, studying of taxonomy and physiology of supported microorganisms, to storage and distribution of not pathogenic strains of microorganisms which used in the research and applied purposes. The updated catalog of microorganisms of a collection will be placed on an organization site soon.

О ВОЗМОЖНОСТИ ИДЕНТИФИКАЦИИ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИСТОЧНИКОВ

Быковская Е.Ю., Жуковская В.А., Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт Эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук,
Санкт-Петербург; e-mail: lpkuz@iephb.ru

При промышленном производстве холинэстераз и в лабораторной практике иногда возникает необходимость в идентификации этих ферментов. Это может быть связано с нарушениями в процессе производства и хранения ферментов, а также при утрате маркировки готовой продукции. Например, идентификацию ацетилхолинэстеразы из электрической ткани электрического угря (АХЭУ) от ацетилхолинэстераз из эритроцитов человека (АХЭЧ), лошади (АХЭЛ) и верблюда (АХЭВ) можно осуществить путём сравнения чувствительности этих ферментов к обратимому ингибирующему действию следующих трёх фосфониевых соединений: $(C_6H_5)_3 P^+– CH_2CH_2CH_3·Br^-$ (1); $(C_6H_5)_3 P^+– CH_2CH =CH_2·Br^-$ (2) и $(C_6H_5)_3 P^+– CH_2C ≡ CH·Br^-$ (3). С этой целью для каждого фермента подбирают такую концентрацию ингибитора (C_1 – для ингибитора 1, C_2 – для ингибитора 2 и C_3 – для ингибитора 3), которая уменьшает ферментативную активность вдвое (I_{50}) (табл. 1). Затем вычисляют величины отношений C_2/C_3, C_1/C_2 и C_1/C_3 (табл. 2).

Т а б л и ц а 1. Концентрации ингибиторов, при которых ферментативная активность снижается вдвое (I_{50},мкМ). (Погрешность 10%; n = 5; P = 0,95)

№	Ингибитор	I_{50}, мкМ			
		АХЭУ	АХЭВ	АХЭЛ	АХЭЧ
1	$(C_6H_5)_3P^+– CH_2CH_2CH_3·Br^-$	200	80	150	50
2	$(C_6H_5)_3P^+– CH_2CH=CH_2·Br^-$	60	60	150	40
3	$(C_6H_5)_3P^+– CH_2C≡CH· Br^-$	50	40	84	21

Т а б л и ц а 2. Величина отношений концентраций ингибиторов, уменьшающих активность ацетилхолинэстераз в 2раза

Фермент	Отношение концентраций ингибиторов		
	C_2 / C_3	C_1 / C_2	C_1 / C_3
АХЭУ	1,2	3,3	4,0
АХЭВ	1,5	1,3	2,0
АХЭЛ	1,8	1,0	1,8
АХЭЧ	1,9	1,2	2,4

Из данных табл. 2 следует, что в опытах с АХЭУ величина C_1/C_2 больше величины C_2/C_3, но меньше величины C_1/C_3, а в опытах с АХЭВ, АХЭЛ и АХЭЧ величина C_1/C_2 меньше не только величины C_1/C_3, но и величины C_2/C_3 . Эта особенность АХЭУ позволяет проводить её надёжную идентификацию.

Таким образом, использование предложенных фосфониевых соединений в качестве ингибиторов холинэстераз позволяет надежно идентифицировать ацетилхолинэстеразу электрического угря от ацетилхолинэстераз, выделенных из других биологических источников.

ABOUT POSSIBILITY OF THE IDENTIFICATION OF ACETYLCHOLINESTERASES FROM VARIOUS BIOLOGICAL SOURCES

Bykovskaya E.Yu., Zhukovskaya V.A., Zhukovskiy Yu.G., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg; e-mail: lpkuz@iephb.ru

By the industrial cholinesterase production and in the laboratory practice sometimes there is a necessity for identification of these enzymes. It can be connected with infringements in the course of manufacture and storage of enzymes, and also at the loss of marks of the finished products. For example, the identification of an electric fabric of the electric eel acetylcholinesterase (AChEE) from erythrocyte acetylcholinesterases a human (AChEHu), a horse (AChEHo) and a camel (AChEC) can carry out by comparison of sensitivity of these enzymes to reversible inhibiting effect of the three following phosphonium compounds: $(C_6H_5)_3P^+ – CH_2CH_2CH_3 \cdot Br^-$ (**1**); $(C_6H_5)_3P^+ – CH_2CH=CH_2 \cdot Br^-$ (**2**) and $(C_6H_5)_3P^+ – CH_2C \equiv CH \cdot Br^-$ (**3**). With that end in view for each enzyme we select such inhibitor concentration (C_1 - for inhibitor **1**, C_2 - for inhibitor **2** and C_3 - for inhibitor **3**) which reduces the enzyme activity twice (I_{50}) (see tab. 1). Then calculate sizes of relations C_2/C_3, C_1/C_2 and C_1/C_3 (tab. 2).

Table l . Concentrations of inhibitors at which the enzyme activity decreases twice (I_{50}, a mcM). (The Error of 10%; n = 5; P = 0,95)

№	Inhibitor	I_{50}, mcM			
		AChEE	AChEC	AChEHo	AChEHu
1	$(C_6H_5)_3P^+ – CH_2CH_2CH_3 \cdot Br^-$	200	80	150	50
2	$(C_6H_5)_3P^+ – CH_2CH=CH_2 \cdot Br^-$	60	60	150	40
3	$(C_6H_5)_3P^+ – CH_2C \equiv CH \cdot Br^-$	50	40	84	21

From tab. 2 follows, that in experiences with AChEE the size C_1/C_2 more than size C_2/C_3, but it is less than size C_1/C_3, and in experiences with AChEC, AChEHo and AChEHu size C_1/C_2 is less not only sizes C_1/C_3, but also sizes C_2/S_3. This property of AChEE allows to spend its reliable identification. Thus, the use of proposed

Table 2. Size of relations of inhibitor concentration, reducing the acetylcholinesterase activity twice

Enzyme	Size of relations of inhibitor		
	C_2 / C_3	C_1 / C_2	C_1 / C_3
AChEE	1,2	3,3	4,0
AChEC	1,5	1,3	2,0
AChEHo	1,8	1,0	1,8
AChEHu	1,9	1,2	2,4

Phosphonium compounds allows to identify reliably of the electric eel acetylcholinesterase from acetylcholinesterases, allocated of other biological sources.

БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗНЫЙ ГИДРОЛИЗ ДИТИОХОЛИНОВОГО ЭФИРА ПРОБКОВОЙ КИСЛОТЫ

Быковская Е.Ю., Жуковская В.А., Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е.

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт Эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской академии наук, Санкт-Петербург; e-mail: esoch@iephb.ru

Дихолиновые эфиры дикарбоновых кислот, такие как дитилин и субехолин, применяются в медицине в качестве миорелаксантов при торокальных операциях.. Существует мнение, что длительность воздействия этих соединений на организм определяется скоростью их гидролиза под действием бутирилхолинэстеразы, содержащейся в плазме крови. Следует отметить, что опасность применения этих соединений при операциях состоит в том, что у некоторых пациентов существует генетически обусловленная сниженная или полностью отсутствующая активность бутирилхолинэстеразы плазмы. Применение дихолиновых эфиров может вызвать у таких пациентов опасную для жизни длительную задержку дыхания. В литературе имеются данные об основных закономерностях бутирилхолинэстеразного гидролиза дихолиновых эфиров. Установлено, что реакция протекает в две стадии. На первой происходит расщепление диэфира с образованием моноэфира и холина, на второй – гидролиз моноэфира после полного исчерпания диэфира. Вторая стадия реакции протекает в десятки раз медленнее первой.

Нами проведено исследование возможности применения серосодержащего аналога субехолина – дитиохолинового эфира пробковой кислоты (ДТХЭ-6), в качестве модельного соединения в реакциях взаимодействия с бутирилхолинэстеразой плазмы крови человека. Установлено, что бутирлхолинэстеразный гидролиз ДТХЭ-6 протекает в две стадии, так же как и у его кислородного аналога. На первой – дитиоэфир расщепляется с образованием моноэфира и тиохолина. Гидролиз моноэфира начинается после полного исчерпания диэфира и протекает в десятки раз медленнее, чем гидролиз дитиоэфира. Величины кинетических параметров гидролиза дитиоэфира под действием бутирилхолинэстеразы плазмы крови человека составляют: константа Михаэлиса $К_м$ = 2,2 мкМ и предельная скорость V= 20 мкМ/мин.

Таким образом показано, что механизм гидролиза ДТХЭ-6 под действием бутирилхолинэстеразы плазмы крови человека сходен с механизмом гидролиза этим же ферментом его кислородного аналога субехолина. Преимущество ДТХЭ-6 как модельного соединения дихолина при изучении механизмов взаимодействия с холинэстеразами заключается в том, что продуктом гидролиза ДТХЭ-6 является тиохолин, который позволяет использовать для определения скорости ферментативного гидролиза высокочувствительный фотометрический метод Эллмана.

BUTYRYLCHOLINESTERASIC HYDROLYSIS OF THE DITHIOCHOLINIC ETHER OF THE PITH ACID

Bykovskaya E.Yu., Zhukovskaya V.A., Zhukovskiy Yu.G., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E.

Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry
of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg;
e-mail: lpkuz@iephb.ru

The dicholinic ethers of dicarboxylic acids, such as Dithylinum and Subecholinum, are applied in medicine in quality myorelaxant. There is an opinion, that duration of influence of these compounds on an organism is defined by speed of their hydrolysis under action of butyrylcholinesterase, contain-

ing in blood plasma. It is necessary to notice, that the danger of application of these compounds at thorax operations consists that exists genetically caused lowered or completely absent activity of butyrylcholinesterase in plasmas at some patients. Application dicholinic ethers can cause a long delay of breath which dangerous to a life in such patients. In the literature there are data about the basic laws butyrylcholinesterasic hydrolysis dicholinic ethers. It is established, that reaction proceeds in two stages. On the first there is a splitting diether to formation of a monoether and cholin; on the second – hydrolysis of a monoether after full exhaustion diether. The second stage of reaction proceeds in tens times more slowly the first.

We carry out research of possibility of application sulfur-containing analogue of Subecholinum – dithiocholinic ether of pith acid (DTChE-6), as modelling compound reactions of interaction with butyrylcholinesterase plasmas of blood of a humen. It is established, that butyrylcholinesterasic hydrolysis DTChE-6 proceeds in two stages, as well as at its oxygen analogue. On the first – dithioether it is split with formation of a monoether and thiocholin. Monoether hydrolysis begins after full exhaustion dithioether and hydrolysis monoether proceeds in tens times more slowly, than. dithioether. There are sizes of kinetic parametres of hydrolysis dithioether under action butyrylcholinesterase: constant of Michaelis K_m = 2,2 mcM and speed limit V = 20 mcM /minutes.

Thus it is shown, that the mechanism of hydrolysis DTChE-6 under action butyrylcholinesterase plasmas of blood of the human is similar to the hydrolysis mechanism the same enzyme of its oxygen analogue Subecholinum. Advantage DTChE -6 as modelling compound dicholin at studying of interaction with cholinesterases consists that a product of hydrolysis DTChE -6 is thiocholin which allows to use high-sensitivity photometric Ellman method for definition of speed enzymatic hydrolysis.

ПРЯМОЕ ИЗМЕРЕНИЕ В СРЕДЕ РОСТА РАЗМЕРОВ И КОНЦЕНТРАЦИИ КЛЕТОК ЛЮБЫХ ТИПОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОТОКА TAILOR-COUETTE

Бунин В.В.
Аспирант МГУПИ,
vadbun@mail.ru,

Размер и концентрация клеток являются важными и распространенными параметрами, которые используются в лабораторных исследованиях и при мониторинге индустриальных биотехнологических процессов. Несмотря на обилие методов измерений, и их приборной реализации, потребность в достаточно простых, надежных и точных приборах для определения этих параметров постоянно растет.

Использование старт стопного режима гидродинамической ориентации клеток в потоке Tailor-Couette позволяет измерять размеры клеток и рассчитывать их концентрацию в любых средах без пробоподготовки. Особенно, это преимущество проявляется при определении размеров животных клеток, для которых процесс пробоподготовки во многих случаях является критическим и вносящим артефакты. Процедура измерения размеров основана на формировании в цилиндрическом потоке Tailor-Couette градиента скоростей от нулевой до угловой скорости внутреннего цилиндра. Градиент скоростей вызывает ориентацию клеток в поле гидродинамических сил. Состояние ориентации является неустойчивым, и как следует из решения уравнения Навье-Стокса, эпизодически происходит быстрое кувыркание клеток с повторным возвратом с помощью поля гидродинамических сил в состояние ориентации. При относительно быстрой остановке потока, релаксационная кривая перехода клеток в хаотическое состояние представляет собой сумму экспонент, показателями которых являются коэффициенты вращательной диффузии (КВД), а весовыми множителями концентрации фракций данного размера. Для ее

регистрации используется оптическая процедура и одновременно измеряется оптическая плотность образца.

Аналитическая связь КВД с размерами клеток позволяет произвести их расчет и определить сечение светорассеяния. Измеренной оптической плотности суспензии, расчетного сечения светорассеяния клеток и величины абсолютного изменения оптической плотности при их ориентации достаточно для точного определения концентрации или титра клеток в любых поддерживающих средах.

DIRECT MEASUREMENT ON THE TAILOR-COUETTE FLOW THE SIZE OF CELLS AND ITS CONCENTRATION IN ANY CULTURE MEDIA

Bunin V.V.

Size and concentration of cells are important and common parameters, which are used in laboratory studies and in monitoring of industrial biotechnological processes. Despite the big amount of measurement methods and their implementation in the instrument, the need in simple, reliable and accurate instruments for measurement of these parameters is constantly growing.

Using start-stop mode of hydrodynamic orientation of cells in Tailor-Couette current allows us to measure the dimensions of cells and count their concentration in any medias without sample preparation. Especially, this advantage is obvious in determining the amount of animal cells, for which the process of sample preparation in many cases is a critical and inserting spoiling elements. Procedure of size measuring is based on formation in cylindrical flow of Tailor-Couette the gradient of speeds from zero to angular speed of inner cylinder.

Gradient of velocity causes the orientation of cells in the field of hydrodynamic forces. Orientation position of cells is unstable, and as it follows from the solution of Navier – Stokes equations, occasionally, there is a rapid spin of cells with return them by hydrodynamic field forces in oriented condition. With relatively rapid stop of the flow, relaxation curve transition of cells in a chaotic condition represents the sum of the exponents, parameters of which are the coefficients of rotational diffusion (CRD), and weight multipliers are concentrations of the fractions of present sizes. For its registration optical procedure is used and at the same time optical density of the sample is measured.

Analytical link CRD with the size of cells allows us to do their calculation and find the cross-section of light scattering. Measurement of optical density, the calculated cross-sections of cells light scattering and the value of absolute change of optical density in their orientation are enough to accurately calculate the concentration (titre) of cells in any culture medias.

СОРБЦИОННОЕ ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ЭНЗИМАТИЧЕСКОГО ГИДРОЛИЗА

Ефименко Н.В., Котова Н.В., Глазова Н.В.
ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская химико-фармацевтическая академия» министерства здравоохранения Российской Федерации,
197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14.

В последние годы в нашей стране большое внимание уделяется государственной программе «Отходы», одно из направлений этой программы – максимально возможное вторичное вовлечение отходов в хозяйственный оборот. Возможность возвращения ценного реактива в производственный цикл существует при производстве 6-аминопенициллановой кислоты (6-АПК) путем

энзиматического гидролиза калиевой соли бензилпенициллина. По технологии существующей в настоящей время общий выход целевого продукта составляет 60%, остальные 40% являются отходами, в которых содержится большое количество фенилуксусной кислоты (ФУК), 6-АПК и бензилпенициллина. ФУК является ценным реактивом для различных химических реакций (в процессе биосинтеза бензилпенициллина, при получении некоторых полусинтетических антибиотиков и др.). В настоящее время переработка отходов не осуществляется из-за сложности разделения продуктов гидролиза, так как они близки по своим физико-химическим свойствам. Для выделения ФУК из продуктов энзиматического гидролиза предлагается использовать сорбционно-хроматографический метод с применением сорбентов нового поколения (макропористые сорбенты, сверхсшитые сорбенты). Подобраны оптимальные условия проведения процесса сорбции ФУК из модельных растворов на различных сорбентах. Получены высокие коэффициенты распределения для ФУК на сверхсшитом макропористом сульфокатионите С-160 (при этом 6-АПК и бензилпенициллин практически не сорбируются). Установлено, что для всех продуктов гидролиза характерна внутридиффузионная кинетика сорбции. Рассчитанные коэффициенты диффузии показывают, что процесс протекает с достаточно высокой скоростью, при этом максимально значение для ФУК было получено на катионите С-160.

В связи с вышеизложенным предполагается разработка схемы выделения ФУК из смеси продуктов энзиматического гидролиза бензилпенициллина с использованием макропористого сверхсшитого сорбента С-160.

SORPTION FRACTIONATION PRODUCTS OF ENZYMATIC HYDROLYSIS.

Efimenko N.V., Kotova N.V., Glasova N.V.
Saint-Petersburg Chemical-Pharmaceutical Academy,
197376, Russia, St. Petersburg, prof. Popov street, 14.

In recent years our country has a lot of attention is paid to the state program “Waste”, one of the directions of the programme is the fullest possible involvement of waste in the economic turnover. The opportunity of return a valuable reagent in the production cycle exists in the production of 6-aminopenicillanic acid (6-APA) by enzymatic hydrolysis of the potassium salt of benzylpenicillin. According to the technology existing in the present time, the overall product yield of is 60%, the other 40% are waste, which contains a large amount of phenylacetic acid (PAA), 6-APA and penicillin. PAA is a valuable reagent for various chemical reactions (in the biosynthesis of penicillin, when getting some semi-synthetic antibiotics, etc.). Currently, recycling is not carried out because of the complexity of the hydrolysis product separation, as they close in on their physicochemical properties. For isolation the PAA from the products of enzymatic hydrolysis is proposed to use the sorption-chromatographic method using a new generation of sorbents (macroporous sorbents, hypercrosslinked sorbents).

Selected optimal conditions of the sorption PAA from model solutions on different sorbents. Obtained high distribution coefficients for PAA on hypercrosslinked macroporous sulphocationite C-160 (while 6-APA and penicillin almost not sorbed). Found that for all the products of hydrolysis characteristically internal diffusion of kinetics of sorption. The diffusion coefficients show that the process occurs at a sufficiently high speed, and the maximum value for the PAA was obtained for cationit C-160. In connection with the above, is proposed developing a scheme of isolation of PAA from mixture of products of enzymatic hydrolysis of penicillin with using macroporous hypercrosslinked sorbent C-160.

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНЫХ СВЯЗУЮЩИХ ДОБАВОК К ГРУНТО-ЦЕМЕНТНЫМ СМЕСЯМ НА ОСНОВЕ МИКРОБНОЙ БИОМАССЫ

Градова Н.Б [1]., Шаранина Н.А [2]
[1]*РХТУ им. Д.И. Менделеева,*
[2]*ЗАО «SGS VOSTOK Limited»*

Одним из перспективных направлений расширения использования биотехнологических процессов и биопрепаратов является разработка технологии получения связующих добавок на основе микробной биомассы для повышения технико-эксплуатационных характеристик грунтосмесей – экономически эффективных строительных материалов в современных условиях интенсивного развития транспортной инфраструктуры и дорожного строительства в РФ. В настоящее время хорошие результаты для повышения прочности строительных материалов на основе грунтосмесей получены при использовании препарата Perma-Zyme (США), представляющего собой продукт метаболизма дрожжей *S.cerevisiae*, выращенных на свекловичной мелассе [1].

Целью настоящей работы явилась разработка технологии получения связующих добавок для грунтосмесей на основе биомассы микроорганизмов, технология получения которой разработана, или является отходом биотехнологических производств. Разработаны режимы (время, pH, концентрации стимулирующих веществ, среда проведения автолиза, возраст биомассы и др.) [2] и проведена оценка функциональной активности автолизатов биомассы бактерий *Bacillus subtilis, Methylococcus capsulatus*, дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula rubra*, *Endomycopsis fibuligera* и грибов *Penicillium lanosum*. В лабораторных условиях при использовании метода полусухого прессования грунто-цементных смесей и определении прочности образцов на изгиб и сжатие показано, что испытанные автолизаты могут быть использованы для повышения прочностных характеристик грунтоблоков.

Грунтоблоки с добавками на основе автолизатов метанокисляющих бактерий, активного ила, биомассы дрожжей *S.cerevisiae* и *E.fibuligera* превосходили по прочностным характеристикам грунтоблоки с добавкой препарата Perma-Zyme. Грунтоблоки, полученные в промышленных условиях (на базе ЦНИИСК им. В.А.Кучеренко) с использованием автолизатов *S.cerevisiae* и *M.capsulatus* по прочностным характеристикам превосходили бездобавочную систему на 25-30%.

Литература:

1. Кислухина О.В., Калунянц К.А., Аленова Д.Ж.Ферментативный лизис микроорганизмов. – Алма-Ата: Рауан, 1990 – 200с.
2. Инструкция по использованию препарата «Perma-Zyme».

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY EFFECTIVE BINDER BASED ON MICROBIAL BIOMASS FOR GROUND-CEMENT MIXTURES

Gradova N.B., Sharanina N.A.

One of promising paths for more extensive use of biotechnologies and biopreparations is developing a binder technology basically using microbial biomass towards higher operational performance of the ground mixtures, a cost-effective type of construction materials in the context of transportation infrastructure and road-construction activities intensively growing in Russia today. At present good results have been achieved well for higher strength of ground-mixture construction materials by using Perma-Zyme preparation (USA) which is a metabolic product of *S.cerevisiae* yeast grown on beet molasses [1].

The goal of this study is to develop a binder technology for ground mixtures using the microbial biomass either made by existing technology or as waste product of biotechnology facilities. The process conditions have been developed (time, pH, stimulator concentrations, autolysis environment, biomass age, etc.) [2], and the functional activity of biomass autolysats have been estimated the bacteria *Bacillus subtilis*, *Methylococcus capsulatus*, the yeasts – *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodotorula rubra* and *Endomycopsis fibuligera*, and the fungi – *Penicillium lanosum*.

In laboratory ground-cement mixtures were processed by dry pressing method with their samples tested for bending and compression strength. The tests show that the test autolisats can serve to improve the strength properties of ground blocks.

Thus the groundblocks with binder additions using the autolisats of methane-oxidizing bacteria, active sludge and the yeasts *S.cerevisiae* and *E.fibuligera* show higher strength than the groundblocks added with Perma-Zyme.

The groundblocks made in industrial environment (on the premises Central Scientific and Research Institute of Building Structures named after V.A. Kucherenko) with the autolysats *S.cerevisiae* and *M.capsulatus* are 25 – 30% better in strength properties versus a binder-free material.

Literature:

1. Кислухина О.В., Калунянц К.А., Аленова Д.Ж.Ферментативный лизис микроорганизмов. – Алма-Ата: Рауан, 1990 – 200с.
2. Инструкция по использованию препарата «Perma-Zyme».

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ АДАПТИРОВАННЫХ К СТРЕССУ ДРОЖЖЕЙ S*ACCHAROMYCES CEREVISIAE* В ПРОТОЧНОМ РЕЖИМЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭТАНОЛА

Хохлачев Н.С., Каленов С.В., Малютина О.В., О.С., Кузнецов А.Е.
Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева,
125047, Москва, Миусская пл., 9

Широко используемые в спиртовом производстве дрожжевые культуры S. cerevisiae имеют ряд недостатков, связанных зачастую с низкой физиологической активностью и невысокой жизнеспособностью штаммов, образованием относительно больших количеств побочных продуктов. Устранение указанных недостатков могло бы привести к существенному экономическому эффекту. Анализ литературы (Jamieson, 1992) указывает на принципиальную возможность повышения жизнеспособности, физиологической активности дрожжей за счет приобретения культурой стрессоустойчивости.

Показано, что улучшение характеристик культуры дрожжей возможно при воздействии оптимальных доз стрессовых факторов в аэробных и микроаэрофильных условиях при освещении видимым светом. Такую обработку целесообразно проводить на стадии подготовки посевного материала путем последовательных пересевов культуры дрожжей с внесением пероксида водорода в предстационарной фазе роста. Это приводит к увеличению содержания белка в биомассе, уменьшению лаг-фазы, увеличению устойчивости дрожжей к повышенным концентрациям этилового спирта при более полном усвоении субстрата.

Контролирование факторов окислительного стресса может служить основой для совершенствования получения этанола в непрерывном режиме с использованием иммобилизованных клеток дрожжей. Использование инкапсулированной в альгинат биомассы адаптированных к H_2O_2 дрожжей в проточном анаэробном режиме с внесением микродоз пероксида водорода снижает остаточную концентрацию субстрата на выходе, повышает продуктивность процесса

и устойчивость альгинатных гранул за счет контроля деления клеток дрожжей и повышения их активности.

THE USE OF IMMOBILIZED AND ADAPTED TO STRESS YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* IN A FLOW CULTIVATION FOR PRODUCTION OF ETHANOL

Khokhlatchev N.S., Kalyonov S.V., Malyutina O.V., Kuznetsov A.Ye.
D. Mendeleyev University of Chemical Technology of Russia,
Moscow, 125047, Miusskaya sq., 9

Yeast cultures S. cerevisiae widely used in the production of ethanol have a number of disadvantages associated frequently with a low phisiological activity and viability of strains, production of relatively large amount of by-products. The elimination of these shortcomings could lead to significant economic effect. Analysis of literature (Jamieson, 1992) indicates a theoretical possibility to improve the viability and physiological activity of yeast by the acquisition of yeast strain to stress.

It was showed the improvement of the characteristics of yeast cultures at the impact of optimal doses of stress factors in aerobic and microaerophilic conditions and illumination by visible light. Such a treatment is expedient at preparation of seed material for the fermentation process by serial passage of yeast culture with the addition of hydrogen peroxide at the pre-stationary phase of growth. It leads to an increase in the protein content in the biomass, lag-phase reduction, increase of the resistance of yeast to elevated concentrations of ethanol at the higher consumption of substrate.

Controlling factors of oxidative stress can be the basis for the improvement of ethanol production at the continuous fermentation with immobilized yeast cells. The use of encapsulated in alginate biomass of adapted to H_2O_2 yeast at flow anaerobic conditions and addition of micro-doses of hydrogen peroxide decreases the output concentration of substrate, increases the productivity of the process and stability of alginate granules owing to control of yeast cell division and elevation of their activity.

БИОДЕСТРУКЦИЯ КОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ПЭНП С ДРЕВЕСНОЙ МУКОЙ И РАЗЛИЧНЫМИ КОМПАТИБИЛИЗАТОРАМИ В ПОЧВЕ.

Королева А.В., Луканина Ю.К., Хватов А.В., Попов А.А.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля.
119334, РФ, Москва, ул. Косыгина, д. 4.

Интенсивное развитие полимерной промышленности привело к увеличению накопления пластиковых отходов. Для их скорейшей утилизации следует использовать биоразлагаемые полимеры.

Данная работа направлена на изучение способности к биоразложению полимерной композиции на основе ПЭНП с добавлением 30% древесной муки (ДМ) и различными компатибилизаторами (СЭВА, LLDPE-gGMA). Образцы были смешаны на лабораторном смесителе типа «Брабендер» при 140°С, затем на прессе были получены пленки толщиной 100-120 мкм.

Для изучения процесса биодеструкции пленки, в том числе и чистый ПЭНП, были помещены в почву, экспозиция длилась 18 месяцев. Параметром, характеризующим биоразложение, служило измерение потери массы образцами. Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение ДМ в композицию значительно ускоряет процесс разложения по сравнению с чистым ПЭНП. Введение различных компатибилизаторов на процесс биоразложения практически не влияет. По данным ИК-спектроскопии в процессе экспозиции в земле у композитов проис-

ходит расходование карбонильных и гидроксильных групп, принадлежащих ДМ. В то время как у ПЭНП расходования гидроксилов, появившихся при получении пленок, с течением времени не происходит, что свидетельствует о его стойкости к биодеструкции.

Можно сделать выводы, что введение природного наполнителя (ДМ) приводит к началу биоразложения композиции в почве. Различные компатибилизаторы на процесс биодеструкции значительно не влияют.

BIODEGRADATION OF LDPE-BASED COMPOSITES WITH WOOD FLOUR AND VARIOUS COMPATIBILIZERS IN THE SOIL

Koroleva AV., Lukanina JK, Khvatov AV, Popov AA
Federal State Institution of Science Institute of Biochemical Physics. NM Emanuel.
119334, Russia, Moscow, st. Kosygin, 4.

Intensive development of the plastics industry has led to an increase in the accumulation of plastic waste. For their speedy disposal, use of biodegradable polymers.

This work is aimed at studying the biodegradability of the polymer composition based on LDPE with 30% wood flour (WF) and the various compatibilizers (EVA, LLDPE-gGMA). The samples were mixed in a laboratory mixer type “Brabender” at 140 ° C, then press were obtained film thickness 100-120 microns.

To study the biodegradation of the film, including pure LDPE, were placed in the soil, the exposure lasted 18 months. Parameter characterizing biodegradation, served as the measurement of weight loss patterns. The results suggest that the introduction of WF in composition accelerates the decomposition process compared to pure LDPE. Introduction of different compatibilizers on the process of biodegradation virtually no effect. According to IR spectroscopy in the exhibition in the ground in the composites are spending carbonyl and hydroxyl groups belonging to WF. While spending a LDPE hydroxyls appeared in obtaining films with time does not occur, which indicates its resistance to biodegradation.

It can be concluded that the introduction of natural filler (WF) leads to the beginning of biodegradation in the soil composition. Various compatibilizers on the process of biodegradation is not significantly affected.

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ НАЗЕМНЫХ РАСТЕНИЙ НА РАЗМНОЖЕНИЕ ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК

Земков Г.В., Егоров М.А., Магзанова Д.К., Батаева Ю.В., Астафьева О.В., Баймухамбетова А.С.
Астраханский государственный университет
Россия, 414000,г. Астрахань, пл.Шаумяна 1, тел.(факс)(8512)51-82-64,
E-mail: dmagzanova@ mail.ru

Наиболее перспективным источником пищевого белка является дрожжевая биомасса, что объясняется полноценностью белковых веществ, аминокислотный состав которых приближается к животному белку, а также безопасностью и абсолютным отсутствием токсичности дрожжей.

В настоящей работе на примере дрожжевых клеток (Saccharomyces cerevisae) представлены результаты исследований по изучению скорости пролиферации, индуцированной экстрактами различных растений. Определена биологическая активность экстрактов путем использования в качестве тест-объекта клеточной культуры Saccharomyces cerevisiae.

Все работы проводились на базе лаборатории биотехнологий Астраханского государственного университета. В работе использовались экстракты растений Sarenoa Serrulata (Пальма Сабаль), Vitis Vinifera (Виноград Культурный), Red Clover (Клевер Красный) , Tribulus Terrestris (Якорцы наземные). В качестве тест – объектов использовались дрожжевые клетки (Saccharomyces cerevisae). Культивирование проводили при темепературе 37°С.

Результаты проведённых опытов показали, что экстракты изученных растений в условиях одинаковой шкалы их концентраций обладают различной способностью влияния на размножение дрожжевых клеток. Это выражалось в том, что экстракты одних растений больший эффект оказывали при наименьших концентрациях, а эффект экстрактов других растений возрастал прямолинейно по мере увеличения концентрации экстрактов. Характер ответной реакции тест-организмов обуславливается не только природой экстракта, но и его концентрацией. В связи с этим, возможно их использование при создании условий для увеличения пролиферации клеток животных в процессе их культивирования.

INFLUENCE OF EXTRACTS OF LAND PLANTS ON REPRODUCTION OF BARMY CAGES

Zemkov G.V., Egorov M.A., Magzanova D.K., Batayeva Y.V., Astafyeva O.V., Baymukhambetova A.S.

Astrakhan State University, Russia, 414000, Astrakhan, pl.Shaumyan 1, ph. (fax) (8512) 51-82-64, E-mail: dmagzanova@ mail.ru

The most perspective source of food protein is the biomass of barmy that is explained by full value of the albumens which structure of aminoacides comes nearer to animal protein, and also safety and absolute lack of toxicity of yeast. In the research on the example of barmy cages (Saccharomyces cerevisae) results of researches on studying of speed of the proliferation induced by extracts of various plants are presented. Biological activity of extracts is determined by a way of use as test object of cellular culture of Saccharomyces cerevisiae.

All researches were carried out on the basis of laboratory of biotechnologies of the Astrakhan state university. In research were used extracts of plants of Sarenoa Serrulata (Palma Sabal), Vitis Vinifera (Grapes Cultural), by Red Clover (the Clover Red), Tribulus Terrestris (Yakortsa land). In quality the test – objects were used barmy cages (Saccharomyces cerevisae). Cultivation carried out at to temperature 37°C.

Results of the made experiments showed that extracts of the studied plants in the conditions of an identical scale of their concentration possess various ability of influence on reproduction of barmy cages. It was expressed that extracts of one plants rendered bigger effect at the smallest concentration, and the effect of extracts of other plants increased rectilinearly in process of increase in concentration of extracts. Nature of response of test organisms is caused not only the extract nature, but also its concentration. In this regard, their use at creation of conditions for increase in proliferation of cages of animals in the course of their cultivation is possible.

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ ИЗ ГЛИФОСАТА КИСЛОТЫ

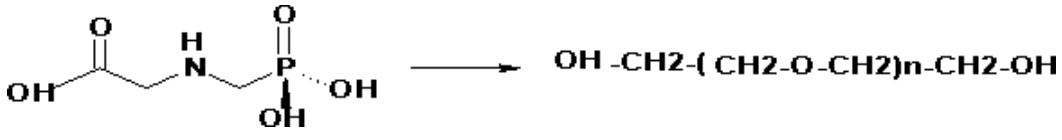
Маллябаева Марина Ивановна, Ягафарова Гузель Габдулловна
ФГБОУ ВПО Уфимский государственный нефтяной технический университет,
кафедра «Прикладная экология»;
тел.8-347-2431737;факс 8-347-2431737;
450062, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Космонавтов, 1,
каф. "Прикладная экология"

В настоящее время, утилизация пестицидов приобрела масштаб общенациональной проблемы. Наиболее прогрессивной технологией утилизации пестицидов во всем мире признана микробная биодеструкция.

Целью данной работы является биотрансформация гербицида глифосата кислоты (в результате был получен низкомолекулярный полиэтиленгликоль.

В качестве микроорганизмов биотрансформаторов были использованы штаммы *Bacillus subtilis ВКМ 1742Д* и *Pseudomonas putida ВКН 1301.*

Наличие полиэтиленгликоля определяли с помощью тонкослойной хроматограммы (ТСХ) и ГЖХ-анализа.



В результате установлено, что использованные штаммы превращают глифосата кислоту в полиэтиленгликоль, содержащий количество молей окиси этилена *n*=15÷17 с молекулярной массой 525÷595. При этом отщепляют из исходной молекулы атомы фосфора, азота и остаток сшивают в полимерную цепь $(-CH_2-O-CH_{2-})_n$. Степень полимеризации несколько варьируется (n=15÷17) в зависимости от использованных штаммов бактерий. Структура выделенного продукта установлена с помощью ИК, ^1H, ^{13}C, ^{31}P ЯМР спектроскопии, а также масс-спектрометрии MALDI-TOFF.

Таким образом, путем биотрансформации гербицида глифосата кислоты, получен полиэтиленгликоль, который находит применение: в онкологии в качестве лечебного средства; в фармацевтической и косметической промышленности как связующее и основа для таблеток, кремов, свечей; как олигомер в производстве полиуретанов, и др. отраслях народного.

WAY OF RECEIVING POLYETHYLENEGLYCOL FROM GLIFOSATS ACIDS

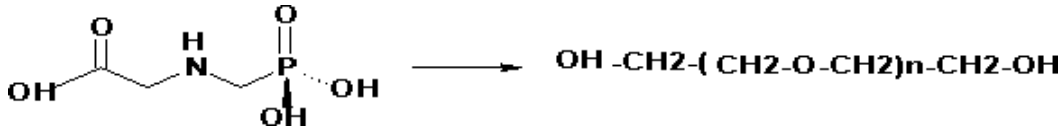
Mallyabaeva M.I., Yagafarova G.P.

Now, utilization of pesticides got the scale of a national problem. Microbic biodestruction is around the world recognized as the most progressive technology of utilization of pesticides.

The purpose of this work is herbicide biotransformation glifosats acids (low-molecular polyethyleneglycol was as a result received.

As microorganisms of biotransformers Bacillus subtilis VKM 1742D and Pseudomonas putida BKH 1301 strains were used.

Availability of polyethyleneglycol defined by means of thin layer хроматограммы (TSH) and the GZhH-analysis.



It is as a result established that the used strains turn glifosats acid into the polyethyleneglycol containing quantity of moths of an oxide of n=15÷17 ethylene with a molecular weight of 525÷595. Thus chip off from an initial molecule atoms of phosphorus, nitrogen and the rest sew in a polymeric chain (-CH_2-O-CH_2-) n. Extent of polymerization varies (n=15÷17) depending on the used strains of bacteria a little. The structure of the allocated product is established by means of IK, ^{1}H, ^{13}C, ^{31}P of a spectroscopy nuclear magnetic resonance, and also MALDI-TOFF mass spectrometry.

Thus, by herbicide biotransformation глифосата acids, polyethyleneglycol which finds application is received: in oncology as a remedy; in the pharmaceutical and cosmetic industry as binding and basis for tablets, creams, candles; as an oligomer in production of polyurethane, etc. branches of the national.

РАЗРАБОТКА ИММУНОБЛОТ-СИСТЕМЫ В КАЧЕСТВЕ ПОДТВЕРЖДАЮЩЕГО ТЕСТА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

Некрасова Н.А., Косова Е.Ю., Данилюк Н.К., Гришаев М.П.
ЗАО «Вектор-Бест»,630559п. Кольцово, Новосибирский район, Новосибирская обл.

Цитомегаловирусная инфекция (ЦМВИ) –широко распространенное вирусное заболевание, вызываемое вирусом герпеса 5-го типа (цитомегаловирусом). Степень выраженности симптомов и дальнейшее развитие инфекции зависят, прежде всего, от состояния иммунной системы инфицированного. Группы риска в отношении развития тяжелых последствий ЦМВИ составляют пациенты с иммуносупрессией, а также беременные женщины.

Серодиагностика инфекции включает в себя как скрининговые, так и подтверждающие тесты. При скрининговом обследовании проводится определение антител классов G и M. Постановка подтверждающих тестов, таких как иммуноблоттинг, ПЦР, определение вирусных компонентов и др. способствует определению стадии заболевания и постановке более точного диагноза.

Нами был разработан набор длядиагностики ЦМВИ методом иммуноблоттинга. В качестве антигена в наборе используется комбинация из нескольких рекомбинантных вирусных белков, иммобилизованных на нитроцеллюлозном стрипе: p150, p28, MIE, p52, gB_1 и gB_2.Появление специфичных антител к различным антигенам отличается по времени, таким образом, в результате анализа можно сделать предположение относительно сроков заражения вирусом. Установление более точной даты инфицирования крайне важно для такой категории пациентов как беременные женщины, поскольку это имеет принципиальное значение прирешении вопроса о сохранении беременности и прогнозировании исхода заболевания.

В ходе проведённых сравнительных испытаний с рядом ИФА-систем для диагностики ЦМВИ («Векто-ЦМВ-IgG» (ЗАО«Вектор-Бест»), CMV-IgG-ELISAPKS («Medac»), Anti-CMVElisa (IgG) («Euroimmun»)), а также иммуноблот-системой «recomBlotCMVIgG»(«Mikrogen») были получены данные о высокой чувствительности и специфичности созданной иммуноблот-системы. Полученные результаты позволяют использовать набор реагентов «ЦМВ-IgG-блот-БЕСТ» в качестве подтверждающего теста для диагностики ЦМВИ.

THE DEVELOPMENT OF THE IMMUNOBLOT SYSTEM AS A CONFIRMATORY TEST FOR THE DIAGNOSTICS OF CYTOMEGALOVIRAL INFECTION

Nekrasova N.A., KosovaE.Yu., Danilyuk N.K., Grishaev M.P.
JSC "Vector-Best", Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559

Cytomegaloviral infection is a widespread viral disease caused by herpes virus type 5 (cytomegalovirus). The severity of symptoms and further development of the infection depend, first of all, on the state of the immune system of the infected individual. Groups of risk for the development of severe complications of CMV include patients with immunosuppression and pregnant women.

Serodiagnostics of infection includes both screening and confirmatory tests. Class G and M antibodies are identified during the screening process. Conducting confirmatory tests such as immunoblotting, PCR, identification of viral components, etc. contributes to the determination of the disease stage and a more accurate diagnosis.

We have developed a kit for cytomegalovirus diagnostics with immunoblotting method. The kit uses a combination of recombinant viral proteins immobilized on a nitrocellulose strip: p150, p28, MIE, p52, gB1 and gB2 as an antigen instead of one protein. Specific antibodies to different antigens appear at different time points, therefore, the assay results allow making a supposition regarding the time when the virus infection occurred. Establishing a more precise date of infection is very important for such a category of patients as pregnant women as it is of fundamental importance for solving the problem of preservation of pregnancy and predicting the disease outcome.

Comparisons with a number of ELISA systems for CMV diagnostics ("Vector-CMV-IgG" (JSC "Vector-Best"), CMV-IgG-ELISA PKS ("Medac"), Anti-CMV Elisa (IgG) ("Euroimmun")) as well as the immunoblot system "recomBlot CMV IgG" ("Mikrogen") provided data on high sensitivity and specificity of the developed immunoblot system. The obtained results allow the use of the set of reagents "CMV-IgG-blot-BEST" as a confirmatory test for CMV diagnostics.

БИОДЕГРАДАЦИЯ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИЭТИЛЕНА И ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ ПОСЛЕ ВЫДЕРЖКИ В ГРУНТЕ

Пантюхов П.В.[1,2], **Колесникова Н.Н.**[1], **Попов А.А.**[1,2]
[1]*Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,*
Россия, Москва, ул. Косыгина, д. 4
[2]*Российский экономический университет им. Г.В. Плеханова,*
Россия, Москва, Стремянный пер., д. 36

Существующие в настоящее время биоразлагаемые полимеры, например полилактиды или полигидроксиалканоаты, существенно дороже традиционных полимеров. Возможность получения более дешевых биоразлагаемых материалов связана с использованием полимерных композиций, включающих, наряду с традиционными термопластичными синтетическими полимерами, биоразлагаемые наполнители природного происхождения. Исследования, проведенные в рамках данной работы, направлены на изучение структуры и свойств смесевых композиций на основе полиэтилена низкой плотности с растительными наполнителями до и после их биодеградации в грунте. В качестве растительных наполнителей были использованы отходы различных производств: льняная костра, лузга подсолнечника, листья деревьев, лигносульфонат натрия, банановая кожура, а также сено разнотравное. После выдержки в почве масса образцов, содержащих растительные добавки, уменьшилась на 10-20%, в зависимости от наполнителя. Уменьшение массы образцов может происходить как за счет вымывания водорастворимых фракций композиций (наибольшее вымывание у композиций с лигносульфонатом и банановой

кожурой), так и за счет биоразрушения добавки. Значения степени кристалличности полиэтилена после экспонирования в грунте, определенные с помощью метода дифференциальной сканирующей калориметрии с учетом изменения состава композиций, снизились. Набухание добавок при выдержке во влажной земле, а также рост гифов микромицетов внутри композиций могут приводить к возникновению значительного давления, приводящего к механическому разрушению, в том числе, граничных слоев полимерной матрицы. Таким образом, можно утверждать, что деструкции подвергается не только наполнитель, но и полимерная матрица композита.

BIODEGRADATION OF POLYMERIC COMPOSITE MATERIALS BASED ON POLYETHYLENE AND LIGNOCELLULOSE DURING THE INCUBATION IN THE SOIL

Pantyukhov P.V.[1,2], **Kolesnikova N.N.**[1], **Popov A.A.**[1,2]
[1]*Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences, Russia, Moscow, Kosygina st. 4.*
[2]*Plekhanov Russian University of Economics, Russia, Moscow, Stremyanny per. 36.*

Extant biodegradable polymers like polylactide or polyhydroxyalkanoate are more expensive than traditional synthetic polymers. The opportunity of creation cheap biodegradable materials is to use composite materials consist of traditional synthetic thermoplastic polymers and natural biodegradable fillers. The research, presented in this article, is focused on the study of the structure and properties of mixed composites, based on polyethylene of low density and different lignocellulosic fillers, during the incubation in the soil. We used different lignocellulosic waste products: flax sheave, sunflower husk, sodium lignosulfonate, banana skin, fallen leaves, straw. After 1 year of incubation in the soil the mass of samples, consisted of polyethylene and natural fillers, decreased by 10-20%, depending on the filler. The mass reduction is caused by fluviraption of water-soluble matters (the composites with lignosulfonate and banana skin have the highest fluviraption) and by biodegradation of the fillers. The degree of crystallinity of polyethylene in composition after incubation in the soil, defined by the method of differential scanning calorimetry, has decreased. The water regain of the fillers in the moisty soil and the growth of fungi's mycelium inside of the composites may lead to high pressure and than to mechanical destruction of board layers of polymer matrix. Thus, it is possible to state that not only fillers destruct in the soil, but the polymer matrix as well.

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ ЛАБОРАТОРНЫЙ СТЕНД ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ С ИМПУЛЬСНЫМИ РЕЖИМАМИ ОСВЕЩЕНИЯ

Бирюков В.В., Зубов Д.В., Макеев П.П., Мальцевская Н.В.
ФГБОУ ВПО Университет машиностроения
107023, г. Москва, ул. Б. Семёновская, д. 38

Фототрофные микроорганизмы, являющиеся источником ценных питательных веществ, а также применяемые для очистки газовых выбросов от углекислого газа, нуждаются в освещении. Значительную часть в себестоимости процесса составляют расходы на освещение фототрофов. Выдвинута гипотеза о том, что можно использовать освещение для культивирования фототрофных микроорганизмов дискретного типа (импульсное) с различными длительностями импульсов и интервалов между ними. Для проверки этой идеи был создан Автоматизированный лабораторный стенд для проведения процессов культивирования микроорганизмов с импульс-

ными режимами освещения – установка на базе шейкера Innova New Brunswick, вмещающая 32 гнезда для колб, разделённых светонепроницаемыми перегородками и оснащённых подсветкой снизу. Источники света – светодиодные лампы с рефлектором. Реализовано 16 независимых каналов освещения, управляемых программой ПК с цифровым осциллографом, при помощи которого можно следить за точностью обеспечения режима каждого канала освещения с разрешением до 1 наносекунды.

В ходе экспериментов по культивированию светозависимых микроорганизмов (фототрофные микроводоросли – *Chlorella sp.,* каротинсинтезирующие дрожжи *Phaffia rhodozyma*) были получены оптимальные параметры освещения – длительность цикла, время темнового периода и т.д., для проектирования электрической схемы на дешёвой элементной базе, которая будет обслуживать промышленную установку.

Ведутся работы по модернизации установки, что позволит плавно изменять яркость источников освещения.

AUTOMATED TEST MACHINE FOR THE PROCESS OF MICROORGANISM CULTIVATION WITH INTERMITTENT ILLUMINATION

Biryukov V.V., Zubov D.V., Makeev P.P., Maltsevskaya N.V.
UNIVERSITY OF MECHANICAL ENGINEERING
107023, Moscow, B. Semenovskaya str., 38

Phototrophs, which are a source of valuable nutrients and are used for cleaning of gas emissions of carbon dioxide, are need of light. A significant part of the process's cost spent on lighting phototrophic microorganisms. Hypothesized that it is possible to use light discrete type (pulse) with different pulse durations and intervals between them for cultivation of phototrophic microorganisms. To test this idea was created Automated test machine for the process of microorganism cultivation with intermittent illumination – set on the basis of the shaker Innova New Brunswick, with capacity for 32 jacks for flask separated light-proof walls and equipped with under lighting. Light sources – LED lamp with reflector. Implemented 16 independent lighting channels that are managed by a PC with a digital oscilloscope, with which you can follow up to ensure coverage of each channel mode with a resolution of 1 nanosecond.

In experiments on the cultivation of light-dependent organisms (phototrophic microalgae – *Chlorella sp.,* yeast *Phaffia rhodozyma*, which can synthesize carotenoids by light) obtained the optimal parameters of lighting – the cycle time, the time period of the dark, etc., for designing electrical circuits in a cheap electronic components, which will serve industrial installation.

Work is underway to upgrade the installation, which will gradually change the brightness of light sources.

ИЗМЕЛЬЧЕНИЕ И АКТИВАЦИЯ ДРЕВЕСНЫХ ОПИЛОК В ПРОЦЕССЕ ПОЛУЧЕНИЯ САХАРОВ

Пашинин А.Е., Касицын Е.М., Никулин А.Е., Диесперов К.В., Акопян В.Б.
Восточно-Сибирский комбинат биотехнологий. Г. Тулун

Реакционная способность природного древесного сырья при ферментативном гидролизе, как правило, невелика, поэтому возникает необходимость его предварительной обработки. Особый интерес представляет комбинированный – химико-механический метод предобработки, позволяющий использовать положительные качества каждой из составляющих и минимизировать отрицательные.

Комплексное воздействие, разработанное для предобработки осиновых опилок с целью получения сахаров в процессе их ферментативного гидролиза, включает предварительное замачивание опилок в 1,5% водном растворе NaOH в течение ~20 часов, последующую сушку и размол на конусной мельнице до частиц размером ≤ 100 мкм. В результате такой предобработки, вдвое и более снижаются затраты энергии на размол единицы массы опилок и на 10-15% (до 40% и более, от массы исходного сырья) повышается выход сахаров в результате гидролиза этих опилок комплексом ферментов Celluclast + Novozyme 188.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности использования комбинированной предобработки целлюлозосодержащего сырья и ее оптимизацию, включая подбор условий химического воздействия и управления длительностью этого воздействия ультразвуком.

GRINDING AND ACTIVATION OF SAWDUST IN THE PROCESS OF SUGARS OBTAINING

Pashinin A.E., Kasitsyn E.M., Nikulin A.E., Diesperov K.V., Akopyan V.B.
OC East-Siberian combine of biotechnologies, Tulun

Reactivity of natural cellulose materials in case of enzymatic hydrolysis, is generally small, that's why there is a need to its pre-treatment. Particular interest is in combined chemical-mechanical method to use the positive qualities of each and minimize the negative.

Complex influence developed for preprocessing of aspen sawdust in the process of enzymatic hydrolysis for sugar production includes about 20 hours presoaking of sawdust in a 1.5% aqueous solution of NaOH then drying and grinding by using a taper mill to a particle size ≤ 100 micron. The result of this preprocessing is twice or more reduction the energy cost for grinding sawdust and up to 40% or more increasing output of sugar in case of the sawdust's hydrolysis by using the enzymatic complex Celluclast + Novozyme 188.

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ НА СИНТЕЗ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ШТАММОМ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *TRAMETES HIRSUTA*

Русинова Т.В., Неманова Е.О., Шкурина Н.А., Горшина Е.С., Бирюков В.В.
Московский государственный машиностроительный университет,
Институт инженерной экологии и химического машиностроения,
Москва, 105066, Ст. Басманная, 21/4, e-mail: tvru@yandex.ru

Высокопотенциальная лакказа является одним из наиболее востребованных современной промышленностью ферментов. Наиболее перспективны для ее получения природные штаммы базидиальных лигнолитических ксилотрофов, в частности, промышленный щтамм-продуцент высокопотенциальной лакказы *Trametes hirsuta* CF-28 [Патент РФ 2345135], лакказная активность которого в стационарной фазе роста составляет до 80% общей оксидазной активности [Shleev S.V.et al., Comparison of physico-chemical characteristics of four laccase from different basidiomycetes // Biochimie.– 2004.–v. Sep-Oct 86 (9-10):, p. 693-703].

Известно, что синтез лакказы в глубинной культуре происходит в конце стационарной фазы роста, что совпадает с исчерпанием источника углерода в питательной среде. Анализ данных по оксидазной активности и концентрации редуцирующих веществ в культуральной жидкости в более, чем 50 процессах культивирования *Trametes hirsuta* в ферментационном аппарате Marubishi геометрическим объёмом 30 л позволил сделать заключение о том, что концентрация углеводов, при которой включается экспрессия гена лакказы и начинается активный синтез ин-

дуцибельной формы фермента составляет менее 0,2% по редуцирующим веществам.

При неблагоприятных для роста культуры условиях (низкий массообмен, pH вне оптимального диапазона, травмирование мицелия движущимися частями механической мешалки) максимум оксидсизной активности наступал до исчерпания субстрата. В оптимальных условиях, на оптимизированной питательной среде максимум оксидазной активности следовал через 4 – 8 часов после исчерпания источника углерода до неопределяемого значения. Таким образом, можно предположить, что поддержание концентрации источника углерода на уровне 0,1 - 0,2% позволит продлить фазу активного синтеза ферментов.

Отсутствие доступного источника углерода, по-видимому, запускает механизм синтеза ферментов, в том числе лакказы, для возможного его получения из труднодоступных источников, каковыми для ксилотрофов в природе являются лигнин и целлюлоза.

INFLUENCE OF CARBON SOURCE CONCENTRATION ON SYNTHESIS OF OXIDATION ENZYMES BY WHITE-ROT FUNGI *TRAMETES HIRSUTA*

T.V.Rusinova, E.O. Nemanova, N.A. Shkurina., E.S. Gorshina, V.V. Biryukov
Moscow State University of Mechanical Engineering,
21/4, Staraya Basmannaya str., Moscow, 105066, Russia, E-mail: tvru@yandex.ru

High potential laccase is one of the most popular modern industrial enzymes. Native species of white-rot fungi are more perspective for laccase production. Trametes hirsuta CF-28 is industrial strain-producer of high-potential laccase [Patent RU № 2345135]. Total oxidase activity contents 80% of laccase activity. [Shleev S.V.et al., Comparison of physico-chemical characteristics of four laccase from different basidiomycetes // Biochimie.– 2004.–v. Sep-Oct 86 (9-10):, p. 693-703].

It is known that laccase synthesis in submerged culture takes place at the end of stationary phase. It is occurs simultaneously with depletion of carbon source in nutrient broth. More then 50 submerged cultivation processes carried out in 30-liter bioreactor were analyzed. We suppose that expression of laccase gene and synthesis of inducible enzyme form take place when carbon source concentration decrease lower then 0,2%.

If cultivation conditions were not favorable (low aeration, pH out of optimal range, damage of mycelium by movable parts of stirring device) maximum of oxidase activity was achieved when the carbon source was not depletion. The highest yield of oxidase activity was achieved at optimized cultivation conditions and followed after carbon source depletion in 4 – 8 h. Thus carbon source concentration maintenance at the level 0,1 - 0,2% would allow to prolong the phase of active enzymes synthesis. The absence of available carbon source evidently launches mechanism of enzyme production, including laccase.

ПОЛУЧЕНИЕ ГЛИКОПРОТЕИНА G (ВПГ1) В БАКУЛОВИРУСНОЙ ЭКСПРЕССИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЕ

Шеметова Е.Б., Юдина О.С., Кандрушина М.П., Данилюк Н.К., Гришаев М.П.
ЗАО «Вектор-Бест»,630559 п. Кольцово, Новосибирский район, Новосибирская обл., АБК

Антитела к оболочечному гликопротеину G1 в сыворотке крови являются типоспецифическим серологическим маркером контакта с вирусом простого герпеса I типа (gG/ВПГ1). Известно, что белок гликозилирован, поэтому при получении рекомбинантного gG1 в целях иммунодиагностики актуален вопрос экспрессии белка в состоянии, близком к нативному. Это возможно достигнуть продукцией белка в клетках эукариот, где происходит гликозилиро-

вание экспрессируемого белка. Нами была использована бакуловирусная система Bac-to-bac (Invitrogen) на культуре клеток насекомых.

На основе донорной плазмиды pFastBac, содержащей транкированный ген gG1, было сделано две конструкции: для секреции чужеродного белка в ростовую среду (вариант 1) и для продукции того же белка в составе клеточной биомассы (вариант 2). Также в плазмиду были встроены Strep-tag и His-tag – кодирующие последовательности для аффинной очистки рекомбинантного белка.

Экспрессия проводилась в монослойной культуре клеток насекомых Sf9 с использованием среды TNM-FH с 10% FBS в течение трех суток при 29°C. Белок с мелиттином секретировался в среду, а без сигнальной последовательности – экспрессировался внутри клеток. Очистка белков проводилась последовательно на смоле со стрептактином, затем – на Ni-NTA.

Активность белков оценивалась в ИФА со специфической панелью сывороток. По предварительным данным, оба белка реагировали с типоспецифическими антителами. Чувствительность и специфичность рекомбинантных антигенов, полученных в бакуловирусной экспрессирующей системе были выше, чем у антигена gG1, наработанного нами в *E.coli*.

Таким образом, показано использование бакуловирусной системы экспрессии в клетках насекомых для эффективной продукции гликопротеина G1 в качестве перспективного диагностического антигена.

THE PRODUCTION OF GLYCOPROTEIN G (HSV1) IN THE BACULOVIRUS EXPRESSION SYSTEM

Shemetova E.B., Yudina O.S., Kandrushina M.P., Danilyuk N.K., Grishaev M.P.
JSC "Vector-Best", Administrative Complex, Koltsovo, Novosibirsk Region, 630559

Antibodies to the envelope glycoprotein G1 in serum are a type-specific serological marker of contact with herpes simplex virus type I (gG/HSV1). It is known that protein is glycosylated, and therefore, the problem of protein expression in a state close to the native one is urgent at the production of recombinant gG1 for immunodiagnostic purposes. This can be achieved by producing protein in eukaryotic cells where the expressed protein is glycosylated. We used the baculovirus system Bac-to-bac (Invitrogen) in insect cell culture.

Two constructs were created on the basis of the pFastBac donor plasmid containing a truncated gG1 gene: one for secretion of foreign protein into the growth medium (variant 1) and one for production of the same protein as part of cell biomass (variant 2). Strep-tag and His-tag coding sequences were also inserted into the plasmid for affine chromatography of recombinant protein.

Expression was performed in a monolayer culture of Sf9 insect cells using TNM-FH medium with 10% FBS for three days at 29°C. Protein with melittin was secreted into the medium, and that without the signal sequence was expressed within cells. Protein purification was performed sequentially on Strep-Tactin resin and then on Ni-NTA.

The activity of proteins was evaluated in ELISA using a specific serum panel. According to the preliminary data, both proteins reacted with type-specific antibodies. The sensitivity and specificity of recombinant antigens produced in the baculoviral expression system were higher than those of gG1 antigen produced in *E.coli* by us.

Thus, the use of the baculoviral expression system in insect cells for efficient production of glycoprotein G1 as a promising diagnostic antigen is demonstrated.

БИОТЕХНОЛОГИЯ НОВОГО МОЛОЧНОГО ПРОДУКТА ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ НА ОСНОВЕ КИСЛОТНО-ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА

Скобелева Н.В.[1], Седунова Г.Г.[1], Скобелев М.М.[1], Скобелев С.М.[1], Мерзликина А.А.[2], Рохмистрова Л.А.[2]

[1]*Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности (ГНУВНИМИ) Россельхозакадемии*
115093, г.Москва, ул.Люсиновская, д. 35, корп.7,
лаборатория направления детского и лечебно-профилактического питания
[2]*ОАО "Молочный комбинат "Воронежский" (холдинг "Молвест"),*
394016, г.Воронеж, ул. 45 Стрелковой Дивизии, 259

Кислотно-ферментативный метод гидролиза белков молока микрофлорой необходим при аллергиях на белок и для повышения усвояемости. В 2012 году разработана и модифицирована биотехнология получения полифункционального пастообразного молочного продукта для детей с 6 месяцев для профилактики белок- и Са -дефицитных состояний и улучшения микробиоценоза. Виды продукта: творог с наполнителями, пищевыми волокнами (ПВ) – "Фибрегам" или топинамбур и др., продукты творожные: с йогуртом, плодо-ягодным наполнителем, ПВ, кальцием. Задали: продукт содержит казеин, концентрат альбумина и глобулина (не менее 7-9% белка) липотропного действия, предупреждающего ожирение печени от токсинов и лекарственных препаратов. В производстве молочная основа с сывороточными белками, пищевыми волокнами, соединениями кальция подвергается термизации, частичному гидролизу и воздействию молочнокислой микрофлоры заквасочных культур. Белки молока, ПВ – гуммиарабик или инулин (в том числе топинамбура) или др., расщепляются на более короткие – пептиды и сахариды, приобретая более усвояемую структуру для детского организма, снижая аллергенную нагрузку. Авторами тезисов из ГНУ ВНИМИ разработан метод определения гидролиза. Биотехнология внедрена на ОАО "Молочный комбинат "Воронежский" для практической помощи населению региона в повышении показателей здоровья и общего снижения смертности.

BIOTECHNOLOGY OF NEW POLYFUNCTIONAL DAIRY PRODUCT BASED ON ACID-ENZYMATIC HYDROLYSIS

Skobeleva N.V.[1], Sedunova G.G.[1], Skobelev M.M.[1], Skobelev S.M.[1], Merzlikina A.A.[2], Rohmistrova L.A.[2]

[1]*All-Russian Research Institute for Dairy Industry (GNU VNIMI) Rosselhozacademii*
115093, Moscow, ul. Lyusinovskaya, 35, korp.7,
laboratory of child and preventive nutrition direction
[2]*JSC "Dairy Enterprise "Voronezhskii" (holding" Molvest "),*
394016, Voronezh, st. 45 Strelkovoi Divizii, 259

Acid-enzymatic method for the hydrolysis of milk proteins microflora needed for allergies to protein and for increase of digestibility. In 2012 biotechnology of multifunctional spread dairy product for children 6 months and older has been designed and modified to prevent protein- and Ca-deficient states and improve microbiota. Product types: cheese with fillers, with dietary fibers – "Fibregam" or Jerusalem artichokes, etc., curd products: with yogurt, fruit and berry fillings, dietary fibers, calcium (Ca). Needed: product contains casein, albumin and globulin concentrate (at least 7-9% protein) of lipotropic effect, prevents fatty of liver from toxins and drugs. In the manufacture milk base with se-

rum proteins, dietary fibers, calcium compounds exposed is treated thermally, partial hydrolysis and effected by lactic acid microflora of starter cultures. Milk proteins and dietary fibers – gum-arabic or inulin (including Jerusalem artichoke), or others, are split into shorter – peptides and saccharides getting more digestible structure to the child's body, reducing allergen load. The GNU VNIMI authors of the headnote have developed method for determination of hydrolysis. Biotechnology has been implemented at JSC "Dairy Enterprise "Voronezhskii" for practical assistance to the population of the region in improving health outcomes and decreasing of overall mortality.

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НОВОГО ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ КОРМОПРОИЗВОДСТВА

Сверчкова Н.В.[1], Заславская Н.С.[1], Романовская Т.В.[1], Коломиец Э.И.[1], Михалюк А.Н.[2], Каврус М.А.[2]

[1]*Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь, e-mail: biocontrol@mbio.bas-net.by*

[2]*УО « Гродненский государственный аграрный университет», Гродно, Беларусь, e-mail: alex-vet@mail.ru*

Эффективное развитие животноводства определяется состоянием кормовой базы и особенно качеством кормов. Экономические исследования и практический опыт показывают, что именно этот показатель определяет успех производства животноводческой продукции. Увеличение продуктивности свиней и птицы на основе повышения усвоения питательных веществ кормов может быть реализовано за счет использования новых биологически активных препаратов.

В настоящее время ведутся интенсивные исследования по разработке и изучению эффективности использования в составе кормов препаратов, обладающих пробиотическим действием, основу которых составляют спорообразующие бактерии рода *Bacillus.*

В Институте микробиологии НАН Беларуси на основе двух штаммов бактерий *Bacillus subtilis*, характеризующихся высокой антагонистической активностью в отношении возбудителей болезней животных – бактерий родов *Escherichia, Staphylococcus, Streptococcus* и ферментативной активностью (протеазной, целлюлазной, ксиланазной), разработана технология получения пробиотического препарата комплексного действия для повышения биологической доступности кормов, иммунокоррекции и активизации процессов метаболизма при выращивании свиней и птицы.

В условиях АПК Беларуси проведены производственные испытания эффективности действия препарата в составе кормов для сельскохозяйственных животных. Использование препарата в составе кормов для поросят-отъемышей способствует активизации белкового, углеводного, минерального обменов, лучшему усвоению питательных веществ корма, снижению затрат корма на 1 кг прироста живой массы на 14,5%, конверсии корма на 28,4% и, как следствие, повышению продуктивности животных на 8,5%.

TECHNOLOGY OF MANUFACTURING AND APPLICATION OF A NEW PROBIOTIC PREPARATION FOR FORAGE PRODUCTION

Sverchkova N.V.[1], Zaslavskaya N.S.[1], Romanovskaya T.V.[1], Kolomiets E.I.[1], Michaluk A.N.[2], Kavrus M.A.[2]
[1]*Institute of Microbiology, Belarus National Academy of Sciences, Minsk, Belarus, e-mail: : biocontrol@mbio.bas-net.by*
[2]*Grodno State Agrarian University, Grodno, Belarus, e-mail: alex-vet@mail.ru*

Effective farm stock breeding is determined by available fodder materials and primarily by quality of feed. Economic research and practical experience show that this key parameter defines the success of livestock production. Increase in productivity of pigs and poultry by improving feed nutrient assimilation can be achieved using new biologically active compounds.

Currently, intensive research is carried out to develop and test efficiency of probiotic preparations based on spore-forming bacteria of the genus *Bacillus* as fodder ingredients.

Complex probiotic preparation to raise biological digestibility of feed, ensure immune correction and activate metabolic processes in reared swine and poultry was derived from bacterial two strains *Bacillus subtilis* distinguished by elevated antagonistic activity towards animal pathogens – bacteria of the genera *Escherichia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* and high enzymatic activity (protease, cellulase, xylanase) at the Institute of Microbiology, National Academy of Sciences, Belarus.

Farm trials of probiotic efficiency as component of feed rations were conducted in Belarus. Feeding probiotic to weaned piglets promotes activation of protein, carbohydrate, mineral metabolism, better digestion of nutrients, reduces expense of fodder per 1 kg of live weight gain by 14.5%, feed conversion ratio by 28.4% and as a consequence, increases animal productivity by 8.5%.

РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОГО ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОДХОДА ДЛЯ КОНВЕРСИИ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКТОВ ИЗ КАРТОФЕЛЯ В ТОПЛИВНЫЙ ЭТАНОЛ И ОБОГАЩЕННЫЙ КОРМ ДЛЯ СКОТА

Цурикова Н.В.[1], Середа А.С.[1], Костылева Е.В.[1], Бугреева Н.С.[2], Крашенинникова Т.К.[2], Синицын А.Н.[2], Синицын А.П.[3]
[1]*ГНУ ВНИИ пищевой биотехнологии Россельхозакадемии, 111033, г. Москва, ул. Самокатная, д. 4 Б*
[2]*ОАО “Биохиммаш”, 127299, г. Москва, ул. Клары Цеткин, д. 4;*
[3]*Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, 119992 г. Москва, Ленинские горы, МГУ, д. 1, стр. 3*

В настоящее время большие объёмы отходов переработки картофеля (до 20000 т в год) не утилизируются, что составляет серьёзную проблему производителей различных картофелепродуктов. Объектом изучения были картофельные очистки, полученные при паровой очистке, сточная вода после промывки резаного картофеля, некондиционное картофельное пюре и механические потери при высушивании. Исследованы обсеменённость отходов и видовой состав микрофлоры. Изучены и оптимизированы режимы измельчения и высушивания отходов с общим сокращением масс не менее чем в 4 раза, при полном сохранении состава, энергетической и кормовой ценности сухих продуктов. Объектами биотрансформации выбраны традиционные биополимеры – полисахариды (крахмал, целлюлоза и гемицеллюлоза клеточных мембран, гликановые фрагменты гликопротеидов и гликолипидов) и полипептиды (общие и структурные белки). Для биоконверсии использовали водно-тепловую подготовку и гидролиз мультиферментными комплексами. Выход глюкозы как прекурсора топливного этанола, составил 92% от теоретическо-

го. Использование бактериальной α-амилазы и грибной мальтогенной α-амилазы приводило к наработке мальтозы и различных мальтоолигосахаридов. На полупромышленном ферментёре ёмкостью 100 л получены партии обогащённых олигосахаридами продуктов заданного состава. Состав и концентрация олигосахаридов определялись методом жидкостной хроматографии. В целом, обоснован и разработан комплексный технологический подход для конверсии отходов производства пищевых продуктов на основе картофеля в продукты, имеющие спрос на рынке.

DEVELOPMENT OF THE COMPLEX TECHNOLOGICAL APPROACH TO BYPRODUCTS OF POTATO PROCESSING CONVERSION INTO BIOETHANOL OR ENRICHED FODDER

Sereda A.S.[1], Tsurikova N.V.[1], Kostyleva E.V.[1], Bugreeva N.S.[2], Krasheninnikova T.K.[2], Sinitsyn A.N.[2], Sinitsyn A.P.[3]

[1]*State Scientific Establishment Russian Scientific Research Institute of Food Biotechnology of Russian Agricultural Sciences Academy, Samokatnaya str. 4b, Moscow, 111033, Russia;*

[2]*JSC "Biochimmash", K.Tsetkin str., Moscow, 127299, Russia;*

[3]*Chemical Department, Moscow State University, Leninskiye Gory, 1-3, GSP-1, Moscow, 119991, Russia*

Currently, large volumes of potato processing byproducts (up to 20,000 tones per year) are not utilized, that makes a serious problem for manufacturers. The object of the study were potato peelings obtained by steam cleaning, waste water after shredded potato washing, substandard mashed potato and mechanical loss on drying. Byproducts contamination degree and microflora species composition were investigated. All the indicators characterizing the marketable potato composition were determined in byproducts using standard methods. We studied and optimized modes of byproducts disintegrating and drying with total mass reduction no less than 4-fold, while maintaining the composition, energy and nutritional value of the dried products. As an object of biotransformation the following substrates were considered: polysaccharides (starch, cellulose and hemicelluloses of cell membranes, glycan fragments of glycoproteins and glycolipids), total carbohydrates, polypeptides (total and structural proteins, enzymes). For bioconversion we used water-heat pretreatment and hydrolysis with multienzyme complexes. Yield of glucose as a bioethanol precursor was 92% from theoretically possible. Application of bacterial and fungal maltogenic α-amylases resulted in production of maltose and various maltooligosaccharides.

Using pilot scale 100-l fermenter we obtained products of desired composition enriched with oligosaccharides. Oligosaccharides concentration and composition was determined by high-performance anion-exchange chromatography.

So the complex technological approach was developed for conversion of the potato processing byproducts into products of high market demand.

БИОИНЖЕНЕРНЫЕ АСПЕКТЫ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ПРОЦЕССА БИОСИНТЕЗА ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ

Винаров А.Ю., Соколов Д.П., Смирнов В.Н.

ОАО «ГосНИИсинтезбелок», 109004, г. Москва, ул. Александра Солженицына, 27

E-mail: vinarov@hotmail.com

Мировой рынок лимонной кислоты (л.к.) достигнет к 2012 г. порядка 450 тыс.тонн в год или в денежном выражении приблизится к 1 млрд. долларов. В России уровень потребления л.к.

ежегодно увеличивается и в 2012г. составит около 40 тыс. т., причем основная часть обеспечивается за счет импортных поставок.

Это связано с низкой технологической конкурентной способностью стадии ферментации на отечественных заводах л.к., в частности, с длительным временем процесса (5-7 суток), низкой конечной концентрацией л.к. (120-150 г/л).

Анализ собственных и известных экспериментальных данных, а также результаты математического моделирования процесса биосинтеза л.к. [1, 2] показывают, что при оптимизации режима ферментации и снятии основного лимитирующего фактора – скорости транспорта O_2 к клеткам, возможно значительное ускорение процесса накопления л.к. и повышение его продуктивности, в частности, при выращивании мицелиальной культуры гриба *Aspergillus niger*

В промышленной практике наибольшее распространение получили биореакторы барботажного действия с нижним воздухораспределительным устройством. При этом, в объеме аппарата обеспечивается мягкое перемешивание среды и достигается скорость массопередачи O_2 порядка 2-3 кг/м^3 час, что с учётом удельного потребления кислорода на синтез 1г л.к., составляющим порядка 1,5-1,7 гO_2/г л.к., позволяет достигать продуктивностью процесса порядка 1 кг л.к/ м^3 час. Эти невысокие технологические показатели затрудняют конкуренцию производимой продукции и не обеспечивают достаточной прибыли заводам л.к.

Нами, предложено техническая модернизация таких промышленных биореакторов за счет дополнительной установки в верхней части аппарата устройства для диспергации воздуха. Проведен расчет конструкции и параметров работы биореактора с таким дополнительным аэрирующим устройством, позволяющим на 15-20% увеличить скорость транспорта кислорода и продуктивность по л.к. При этом, общий расход подаваемого на аэрацию воздуха и энергозатраты увеличиваются не более, чем на 5-7%, что обеспечивает заметный технико-экономический эффект от реализации данной разработки.

1. Оптимизация процесса биосинтеза лимонной кислоты /Винаров А.,Санчес О., Гордеев Л. .ТОХТ, 1996,т.30, № 5 с.525-532.

2. Моделирование кинетики развития клеточной популяции применительно к задаче оптимизации биосинтеза лимонной кислоты/ Клыков С., Кураков В., Винаров А ., Химическая промышленность, 2012, т.89, №5, с. 230-239.

BIOENGINEERED ASPECTS INTENSIFY THE PROCESS OF BIOSYNTHESIS OF CITRIC ACID

Vinarov A. Sokolov, D, Smirnov V
«GosNIIsintezbelok» Moscow, Alexander Solzhenitsyn, 27.
E-mail: vinarov@hotmail.com

The world market of citric acid will reach by 2012 about 450 thousand tons per year, or in terms of money close to $ 1 billion. In Russia, the level of consumption of citric acid increases every year and in 2012. will be about 40 th. tons, with the majority provided by imports.

This is due to low technological competitive ability fermentation of citric acid plants , in particular, with long process (5-7 days), low final concentration of citric acid (120-150 g / l). Own analysis and experimental data and the results of mathematical modeling of the biosynthesis of citric acid [1, 2] show that the optimization mode of fermentation and removing the main limiting factor – the rate of oxygen mass-transfer to the cells, allows to accelerate process of accumulation and increase productivity of citric acid, particularly in growing mycelia cultures of the fungus Aspergillus niger.

In industrial practice, the most widely used bioreactor bubbling action with the lower air diffusers. Thus, to the extent the unit provides a soft mixing medium and the mass-transfer rate O_2 about 2-3

kg O_2/m^3 hour, with the specific consumption of oxygen for biosynthesis of citric acid, of the order of 1.5-1.7 gO_2 / g of citric acid , achieves productivity of citric acid about 1 kg / m^3 h.

These low values make it difficult to compete with technological products and do not provide sufficient profit of citric acid plants.

We have proposed technical modernization of industrial bioreactors due to additional installation in the upper part of the device unit for air dispersion. The calculation of the design and operating parameters of the bioreactor with additional aerating device shows 15-20% increasing in the rate of oxygen transport and productivity of citric acid. Thus, the total flow of air supplied to the aeration and energy costs increased by no more than 5-7%, that provides noticeable technical and economic effect of the implementation of this design.

1. Optimization of the process of biosynthesis of citric acid / Vinarov A., Sanchez O., Gordeev L. ТОНТ, 1996, v.30, № 5 p.525-532.

2. Modeling of the dynamics of the cell population for the problem of optimization of the biosynthesis of citric acid / Kulakov S., Kurakov V., Vinarov A., Chemical Industry, 2012, v..89, № 5, p. 230-239.

МИКРООРГАНИЗМЫ-КАТАЛИЗАТОРЫ ПРОМЫШЛЕННОЙ БИОКОНВЕРСИИ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ ДРЕВЕСИНЫ В КОРМОВЫЕ БЕЛКОВЫЕ ПРОДУКТЫ

Воробьева Г.И., Заикина А.И., Сычев А.Е., Ковальский Ю.В., Шай Хенг Кех, Ступин А.Ю., Акопян В.Б.

ОАО «ГосНИИсинтезбелок»,

109004, Москва, ул. Александра Солженицына, 27

Интенсификация процесса биоконверсии клетчатки в кормовые продукты продуктов может быть достигнута путем обработки, обеспечивающей максимально возможное разрушение структуры древесины для увеличения ее доступности микроорганизмам, синтезирующим целлюлолитические ферменты.

Исследования показали возможность интенсивного выращивания на древесных опилках смешанной культуры микроорганизмов, включающей дрожжеподобный гриб Trichosporon cutaneum, использующий целлюлозу как единственный источник углерода, и дрожжи Saccharomyces cerevisiae, способные расти на гексозах.

Для приготовления питательной среды, древесные опилки размалывали до частиц размером ~ 100 мкм с помощью мельницы, обеспечивающей деформацию при сдвиге под давлением. Для разрушения лигноцеллюлозного комплекса, 5% водные суспензии размолотых и параллельно неизмельченных опилок гидролизовали при температуре 90°С в течение 2-х часов в 12% растворе едкого калия, после чего, гидролизаты подвергали частичному ферментолизу целлюлазой и целлобиазой (Дания) с образованием ≤ 2% редуцирующих веществ. Выращивали смешанную культуру в течение 30 суток, при 34°С и значении pH среды 5,0-5,2 в аппарате «Biotec» объемом 5л, отъёмно-доливным способом, при 60% заполнении с перемешиванием и аэрацией, в количестве 1,5-2 л ежесуточно. В начале каждого процесса выращивания и при каждом отъёме и доливе питательных сред обеспечивали 10 часовый режим окислительного процесса, после чего начиналось брожение. Содержание сырого протеина в полученном в результате биоконверсии продукте составило 20-24% при использовании неизмельченных, и 33-40% для молотых опилок, при остаточном содержание клетчатки 20-25% и 10-15% соответственно.

INDUSTRIAL BIOCONVERSION OF WOOD WASTE INTO FEED-RICH PROTEINS BY USING MICROBIAL CONSORTIUM

Vorobieva G.I., Zaikina A.I., Sitchev A.I., Kovalsky Yu.V., Chai Heng Keh, Stupin A.Yu., Akopyan V.B.
Joint Stock Company "Scientific Research Institute of Proteins Biosynthesis", 109004, Moscow, 27, Aleksandr Soljenitcin str.

The perspective way of wood waste biotransformation is the way of processing for example the sawdust of oil palm wood which includes previous subjection of sawdust to alkaline hydrolysis and then treatment by using cellulase and cellobiase and after that treatment by specially selected mixed culture of bacteria including yeastlike fungi Trichosporon cutaneum, which uses cellulose as the only carbon source, and the yeast Saccharomyces cerevisiae, which can grow on hexoses. .

Biotransformation of sawdust oil palm wood using the selected consortium of microorganisms in a biotechnological process is useful for obtaining feed product containing up to 40% crude protein.

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ТЕТРААЛКИЛАММОНИЙНЫХ ИОНОВ НА ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПТИЦ В РЕАКЦИЯХ ГИДРОЛИЗА АЦЕТИЛТИОХОЛИНА

Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е .Р., Сочилина Е.Е.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт Эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук, Санкт-Петербург; e-mail: esoch@iephb.ru

Тетраалкиламмониевые соли, и, прежде всего, соли тетраметиламмония и тетраэтиламмония, являются специфическими обратимыми ингибиторами «типичных» ацетил- и бутирилхолинэстераз. В отдельных случаях эти соединения способны оказывать противоположное действие, вызывая активацию холинэстеразного гидролиза субстратов. Данные о влиянии тетраалкиламмониевых солей на активность иных холинэстераз, в частности, сывороточных холинэстераз птиц, весьма ограничены. Нами проведено исследование влияния тетраметиламмония (ТМА, $N^+(CH_3)_4\ I^-$) и тетраэтиламмония (ТЭА, $N^+(C_2H_5)_4I^-$) на гидролиз субстрата ацетилтиохолина (АТХ) под действием «нетипичных» холинэстераз сыворотки крови диких голубей *Columba livia* (ХЭГ) и сыворотки крови кур *Gallus gallus* породы Русская белая (ХЭК) в сравнении с «типичной» ацетилхолинэстеразой из эритроцитов крови человека (АХЭ).

Холинэстеразу сыворотки крови кур относят к пропионилхолинэстаразам (т.е. к холинэстеразам, с наибольшей скоростью гидролизующим субстрат пропионилхолин). Для многих пропионилхолинэстераз характерно торможение ферментативной активности высокими концентрациями субстратов. Отличительной чертой ХЭК является отсутствие торможения высокими концентрациями ацетилхолина. Холинэстеразу сыворотки крови голубя относят к бутирилхолинэстеразам (т.е. к холинэстеразам, с наибольшей скоростью гидролизующим субстрат бутирилхолин). Основное её отличие от «типичной» бутирилхолинэстеразы состоят в том, что активность ХЭГ подавляется высокими концентрациями ацетилхолина.

Исследования показали, что соединения ТМА и ТЭА ингибируют активность обоих ферментов только при малых концентрациях АТХ, тогда как при высоких концентрациях АТХ эти соединения проявляют себя по отношению к холинэстеразам птиц как активаторы. Степень проявления активирующего действия зависит от соотношения концентраций субстрата и четвертичной аммониевой соли. Так, в присутствии 20мМ ТМА активация ферментативного гидролиза субстрата наблюдается при концентрациях АТХ более 1мМ как в реакциях с ХЭГ так и

в реакциях с ХЭК. Максимальное активирующее действие проявляется при концентрации АТХ 20мМ и составляет более 50% для ХЭК и 25% для ХЭГ. ТЭА обладает меньшим активирующим эффектом. При концентрации АТХ 20мМ в присутствии 20мМ ТЭА активация составляет для ХЭГ и ХЭК 25% и 20%, соответственно. Ни ТМА ни ТЭА не вызывают активации АХЭ и ингибируют активность этого фермента в широком диапазоне концентраций АТХ.

Холинэстеразы голубя и куры существенно отличаются друг от друга по субстратно-ингибиторной специфичности, тем не менее, активирующее действие тетраалкиламмонийных ионов проявляется и по отношению к ХЭГ, для которой характерно торможение избытком субстрата и по отношению к ХЭК, которая не обладает этим свойством. Структура активного центра холинэстераз сыворотки крови птиц мало изучена, однако, ряд авторов отмечает своеобразное строение активной поверхности ХЭК и приводят данные, свидетельствующие об отсутствии у этого фермента анионного пункта, характерного для большинства холинэстераз. Различия в действии тетраалкиламмонийных ионов на холинэстеразы птиц и АХЭ человека подчёркивают существенную разницу в строении активных центров этих ферментов.

Изучение действия биологически активных соединений на холинэстеразы птиц является актуальным, так как в окружающей среде часто происходит их отравление ядохимикатами, применяемыми для уничтожения вредителей. С другой стороны, физиологическая роль холинэстераз крови до настоящего времени остается неизвестной, поэтому сведения об изменении их реакционной способности под действием различных веществ представляет несомненный практический и теоретический интерес.

THE FEATURES INFLUENCE OF TETRAALKYLAMMONIUM IONS ON THE BIRDS BLOOD SERUM CHOLINESTERASE IN THE HYDROLYSIS OF ACETYLTHIOCHOLINE

Zhukovskij Yu.G., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E.
Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg; e-mail: : esoch@iephb.ru

Tetraalkylammonium salts, and, first of all, tetramethyl- and tetraethylammonium are the specific reversible inhibitors of "typical" acety- and butyrylcholinesterases. Sometimes these compaunds have opposite effect, causing the activation cholinesterase's hydrolysis of substrate. The dates about tetraalkylammonium salts influence on activity of others cholinesterases, in particular, cholinesterases of birds, are rather limited. We carry out research of the influence tetramethyammonium (TMA, $N^+(CH_3)_4 I^-$) and tetraethylammonium (TEA, $N^+(C_2H_5)_4I^-$) on hydrolysis acetylthiocholine (ATCh) under action of "atypical" birds blood serum cholinesterase of wild pigeons *Columba livia* (ChEP) and blood serum of hens *Gallus gallus* breeds Russian white (ChEH) in comparison with "typical" human blood erythrocyte acetycholinesterase (AChE).

The blood serum cholinesterase of hens attributed as propionylcholinesterase (that is cholinesterase, wich hydrolyzed a substrate propionylcholin with the greatest rate). The inhibition by high concentration of a substrate for majority propionylcholinesterase is characteristic, but for ChEH the inhibition by high concentration of substrate is absence. The pigeon blood serum cholinesterase attributed as butyrylcholinesterase (that is cholinesterase, wich hydrolyzed a substrate butyrylcholin with the greatest rate). ChEP basic difference from "typical" butyrylcholinesterase consist that its activity decrease by high concentration of substrate.

Our researches have shown, that TMA and TEA inhibited activity of both enzymes only at small concentration ATCh, whereas at high concentration ATCh, these compounds reacted as activators. Degree of display of the activating action depends on a parity of concentration of a substrate and tetraalkylammonium salts. So, at presence 20мМ TMA activation hydrolysis of substrate is observed at

concentration ATCh more 1мM in reactions with ChEH and in reactions with ChEP. The maximum activating action is observed at concentration ATCh 20мM and makes more than 50% for ChEH and 25% for ChEP. TEA possesses smaller activating effect. At concentration ATCh 20мM at presence 20мM TEA activation makes for ChEP and ChEH 25% and 20%, accordingly.

Neither TMA nor TEA do not cause activation AChE and inhibited activity of this enzyme in a wide range of concentration ATCh.

Cholinesterases a pigeon and a hen essentially differ from each other on substrate-inhibitory specificity, nevertheless, the activating action tetraalkylammonium ions is shown in relation to ChEP for which braking by surplus of a substratum and in relation to ChEH which does not possess such properties is characteristic. The structure of the active centre birds blood serum cholinesterases is a little studied, however, a number of authors marks an original structure of active surface ChEH and the data testifying to absence the anionic point at this enzyme, which characteristic for the majority cholinesterases cite. Distinctions in actions tetraalkylammonium ions on cholinesterases birds and AChE underline an essential difference in a structure of the active centres of these enzymes.

Studying of action of the biologically active compounds on cholinesterases of birds is actual as in environment often there is their poisoning agricultural chemicals, applied to destruction of wreckers. On the other hand, the physiological role of cholinesterases in blood remains till now to the unknown person, therefore data on change of their reactionary ability under the influence of various substances are represented by practical and theoretical interest.

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ КЛАСТЕРЫ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПЛАТФОРМЫ» SECTION "BIOTECHNOLOGY CLUSTERS AND TECHNOGY PLATFORMS"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ ORAL REPORTS

СОВРЕМЕННЫЕ МЕЖДУНАРОДНЫЕ ТЕНДЕНЦИИ И ПРОБЛЕМЫ БИОБЕЗОПАСНОСТИ И БИООХРАНЫ В БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Нетёсов С.В.
Новосибирский государственный университет; Новосибирск, 630090, ул. Пирогова, 2, Российская Федерация

В последние годы Международная Федерация Ассоциаций Биобезопасности провела колоссальную работу по пропаганде и организации обучения медицинских специалистов и проектировщиков международно признанным принципам и практикам по биобезопасности и биоохране. В результате этого во всем мире стало сокращаться число аварий и аварийных ситуаций в лабораториях, работающих с опасными патогенами. Но одним из интересных следствий этой работы стало кардинальное улучшение качества проектирования и реконструкции операционных комнат хирургических отделений больниц, что уже привело к спаду внутрибольничных инфекций и росту числа операций без осложнений в виде вторичных инфекций. В России это следствие тоже хорошо сейчас проявляется, но оно происходит несколько иным путем, чем в развитых странах: в основном, не через растущую образованность медперсонала в области биобезопасности, а через повышение уровня знаний специалистов ведущих строительных компаний.

Вторая важная тенденция – усиление требований к биоохране, что в России традиционно всегда было на хорошем уровне, но сейчас сопровождается интенсивным внедрением современных принципов обеспечения контролируемого доступа в лаборатории и в специальные помещения больниц и аптек.

Третья тенденция – возросшее внимание к биоэтике проведения исследований, что связано с разработкой современных технологий изменения вирусных и бактериальных геномов и, соответственно, с интенсивными дискуссиями среди генных инженеров и врачей и необходимости совершенствования правил разрешительной практики проведения таких исследований.

Все эти три тренда имеют целью еще более повысить как безопасность проводимых исследований с использованием патогенов или их геномов, так и уменьшить число внутрибольничных инфекций, и поэтому крайне важно для современной медицины и здравоохранения.

CURRENT INTERNATIONAL TRENDS IN BIOSAFETY AND BIOSECURITY IN BIOMEDICAL RESEARCH

Netesov S.V.
Novosibirsk state university;Novosibirsk, 630090, Pirogov St., 2; Russian Federation

During the last decade the International Federation of Biosafety Associations made a lot for advocacy and organization of education and training of medical workers and lab designers in internationally approved principles and practices of biosafety and biosecurity. As a result the amount of laboratory accidents with infectious pathogens started to decrease. But one of the interesting consequences of that work was the drastic improvement of the quality of design and construction of surgery rooms in hospitals which already led to a decline in complications after surgery and nosocomial infections. In

Russia the same process is taking place; but, in comparison with the developed countries, with one specific feature: it is taking place mainly not because of the improving education of physicians and medical workers but as a consequence of the improving standards of knowledge of constructors and designers of the leading construction companies.

The second important trend is the strengthening of requirements for biosecurity, which in Russia were traditionally at high level, but now this trend is accompanied with the adoption of the latest personal access control technologies and devices in laboratories and special rooms at drugstores and hospitals.

The third tendency is the increased attention to the principles and practices of bioethics that is closely connected with the development of modern technologies in gene engineering that easily make changes in viral and bacterial genomes giving an opportunity to model the natural evolution of, for example, influenza virus. Therefore a lot of discussions about temporary moratorium on some of the types of such research projects appeared in scientific journals and internet resources. As a result the development of new bioethical principles for gene engineering R&D is being discussed now.

All the three trends have the purpose to upgrade the level of biosafety of these types of research and to diminish the amount of nosocomial infections in hospitals. Therefore these discussions are extremely important for the further improvement of modern medicine research and public health.

ПРОБЛЕМЫ БИОБЕЗОПАСНОСТИ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ И ЭКОЛОГИИ – АНАЛИЗ РИСКОВ

Завриев С.К.

Институт Биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН

В докладе обсуждаются и анализируются вопросы, связанные с проблемами биобезопасности в животноводстве, растениеводстве, экологии и потенциальным угрозам использования возможностей современной синтетической биологии. Приводятся результаты анализа современного положения в этой области в целом, и рекомендации по организации и претворению в жизнь действий, направленных на организацию и реализацию мер по обеспечению биобезопасности.

BIOLOGICAL SECURITY PROBLEMS IN AGRICULTURE AND ECOLOGY – ANALYSIS OF THE RISKS

Sergey K. Zavriev

M.M. Shemyakin-Yu.A Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Questions related to the problems of ensuring biosafety in agriculture – animal and plant breeding, ecology and potential hazards rising from application of modern synthetic biology achievements are discussed and analyzed. The results of the contemporary situation analysis in this area as a whole and recommendations for organization and realization of actions targeted on the assurance of biosequrity are described.

ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ БИОБЕЗОПАСНОСТИ (ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ) ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ТРАНСГЕННЫХ КУЛЬТУР

Др. Николас Сторер,
ведущий специалист по международным научным связям в группе биотехнологии и правительственных связей в компании Dow AgroSciences, США, председатель группы по проектам оценки экологического риска (Environmental Risk Assessment Project Team, ERAPT) в CropLife International

Этот доклад ознакомит присутствующих с основными этапами оценки безопасности трансгенных культур для окружающей среды начиная с обозначения и формулировки проблем, постановки гипотезы эксперимента и анализа (риск = вред х продолжительность воздействия), до характеризации риска и уменьшение его воздействия на окружающую среду. Будут рассмотрены типы и источники информации использующиеся для каждого этапа оценки риска. Примеры трансгенных культур выращиваемых сегодня в мире проиллюстрируют подход.

PRACTICAL ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT OF TRANSGENIC CROPS

Dr. Nicholas Storer,
Senior Specialist for International Relations in a group of biotechnology and government relations in the company Dow AgroSciences, USA, Chairman of the group on the project environmental risk assessment (Environmental Risk Assessment Project Team, ERAPT) at CropLife International

Environmental risk assessment (ERA) helps regulators understand the potential consequences for the agricultural environment when releasing a transgenic crop, within the context of societal goals for agriculture and environmental protection. Problem formulation identifies potential causal pathways to harm to environmental entities that are important to protect, such as soil quality, beneficial organisms, or endangered species. Testable risk hypotheses are developed from the causal pathways to assess the likelihood and extent of potential harm. In many cases, sufficient data may already exist to reach a conclusion of the likelihood of harm. Data are available from crop biology, trait characterization, and knowledge of the agricultural environment, and may arise from other geographies. Where existing data are not sufficient to test a risk hypothesis, a tiered testing program may be undertaken. For example, for a valued beneficial organism, hazard is first estimated in laboratory testing using high concentrations of the transgene product, often with surrogate species. If the organism is shown to be sensitive to the transgene product, higher-tier testing at environmentally-relevant concentrations and exposure pathways allow estimation of the potential effect on the organisms. If reasonable uncertainty still exists, field tests may be warranted to measure population-level effects for sensitive species.

This talk will lead the audience through the steps of environmental risk assessment for transgenic crops beginning with scoping and problem formulation, through hypothesis testing and analysis (risk = hazard x exposure), to risk characterization and mitigation. It will look at types and sources of information used to inform each step of the risk assessments. Examples related to transgenic crops currently cultivated around the world will illustrate the approach.

НЕОБХОДИМОСТЬ МУЛЬТИ МОДАЛЬНЫХ И МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕРИТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ И МАТРИЧНЫЙ АНАЛИЗ

Dr. L. Bachdasarian[1]; R. Bulthuis[1]; E. Molenwijk[1]; S. Zhuchkov[2]
[1]*Metris B.V., The Netherlands, 2132 NG Hoofddorp, Kruisweg 829c, www.metris.nl*
[2]*University of Orel, Russia, www.univ-orel.ru*

Современные тенденции в фармацевтической промышленности требует не только короткие сроки, но и лучшего качества результатов от доклинических испытаний. Для достижения этой цели в экспериментах на животных, необходимо собирать данные из различных областей одновременно, например параметры от поведение животных, физиологии животных и животных вокализации. Чтобы сделать это практически возможно автоматизации и интеграции различных технологий измерения становится важным в доклинических исследованиях.

Поведение животных является интерпретация внутренних и внешних факторов (стимулов).

Поведение = Функция { внутренние стимулы / внешние стимулы}

Поведение = Функция {динамического внутреннего стимула / эффекты лекарство }; если внешние факторы/стимулы = константа

Постоянная окружающая среда- Модулярные виварии и лаборатории, индивидуально вентилируемые стеллажи и клетки для GLP стандарт содержания животных, постоянные внешние факторы(температура, влажность, воздухообмен, запах, нет вибрации)

LABPRODUCTS – обеспечивает лабораторные продукции (клетки, индивидуальные вентилируемые стеллажи, стойки, верстаки, рабочие поверхность, моющие машины и много другие лабораторные (vivarium) принадлежности)

• Постоянная и стабильная окружающая среда необходима для проведения надежных поведенческих исследований и анализов.

• Для повышения качества исследований и получения лучшей статистики, важно анализировать многие параметры из того же поведения (то есть группы параметров или матрицы)

Матричный метод для анализа поведения

Статистические данные и надлежащий анализ очень важны в доклинических исследованиях. Использование нескольких независимых параметров в процессе автоматического распознавания поведения является ключевым. Для того чтобы распознать поведение автоматически, система LABORAS использует так называемый матричный метод, который включает анализ нескольких параметров, которые полученным из системы вычисления.

Ваше специфическое поведение = матрикс / X1, X2, X3 - - - - X; Y1, Y 2, Y 3 - - - - - Y п, E1, E2, E3 - - - - - En /

Вышеуказанный матрикс показывает пример различных параметров определенного поведения.

Где X1,X2, X3 - - - - - - - Xn, ; E1, E2, E3 - - - - - - - En функции от определенного поведения (например амплитуда, частота, полная энергия, энергия передвижения / энергия колебания, и т.д.)

При измерении полной матрицы и кинетической энергии в экспериментах in-vivo (лат. на живом организме) очень важно получить полную этограмму всех поведений, показанных лабораторным животным. Традиционные методы, основанные на наблюдении или видео анализе, слишком ограниченны для этого.

Система LABORAS от компании Metris делает возможным измерения всех видов кинетической энергии, в то время как другие автоматические системы для распознавания поведения могут измерять лишь только энергию передвижения ($mv^2/2$) от всей кинетической энергии. Вдобавок, матричный метод и технология, использованная в системе Laboras, предоставляют

возможность измерять намного больше поведений, распознавая их более точно и полностью автоматически.

Благодаря сочетанию параметров из различных систем матрица будет становиться лучше и это будет улучшать качества результатов от исследований.

LABORAS – система для полного автоматического распознавания, регистрации и анализа поведения маленьких лабораторных грызунов(крыс, мышей), основанная на анализа вибрации и энергии

SONOTRACK- система для записи, воспроизведения и визуализации ультразвукавых вокализаций лабораторных животных

DSI – система для измерения физиологических параметров дистанционно (без проводная измерения давления, температура, ECG, EEG, EMG, идентификация, активность, дыхание)

SLEEPSIGN /Kissei- программное обеспечение SLEEPSIGN для автоматического обнаружения и глубокого анализа стадий сна у животных на основании EEG, EMG сигналов.

THE NEED FOR MULTI-MODAL AND MULTI-FUNCTIONAL MEASUREMENT SYSTEMS IN LABORATORY ANIMAL RESEARCH AND MATRIX ANALYSIS

Dr.L.Bachdasarian[1]; R.Bulthuis[1];E. Molenwijk[1]; S. Zhuchkov[2]

[1]*Metris B.V., The Netherlands, 2132 NG Hoofddorp, Kruisweg 829c, www.metris.nl*

[2]*University of Orel, Russia, www.univ-orel.ru*

Current trends in the Pharmaceutical industry are requiring not only shorter lead times but also better quality of pre-clinical test results. To achieve this animal experiments will have to collect data from different domains at the same time, for example animal behavior, animal physiology and animal vocalizations. To make this practically possibly automation and integration of different measurement technologies becomes is becoming crucial in preclinical research.

Behavior = function {internal stimuli / external stimuli}

Behavior = function {dynamic internal stimulus /from drug effects}; if external factors = constant

Constant environment, modular vivarium and laboratory individually ventilated racks and cages for animals, GLP standard, constant environmental factors (temperature, humidity, ventilation/airflow, odor, no vibration)

LABPRODUCTS – provides laboratory products (cages, individual ventilated racks, work benches, change stations, washing machine and many other laboratory (vivarium) Accessories)

- A constant environment is essential to build reliable behavioral study and analysis
- To enhance the quality of the study and have better statistical probability, It is important to analyze many parameters from the same behavior (i.e. group of parameters or matrix)

Matrix method for Behavior Analysis

Proper analysis and statistics of data is very important in in-vivo experiments. The use of many independent parameters in the automated recognition of a behavior of the animal is therefore crucial. To recognize a behavior automatically, LABORAS applies the 'Matrix Method' involving the analysis of several parameters that are derived from the measurement system.

Your specific behavior = matrix / X1, X2, X3 - - - - - Xn; Y1, Y 2, Y 3 - - - - - Y n; E1, E2, E3 - - - - - En/

The above matrix shows an example of the different parameters for a specific behavior. Where X1, X2, X3 - - - - - - Xn, ; E1, E2, E3 - - - - - - En are functions from the specific behavior (e.g. amplitude, frequency, total energy, locomotion energy, locomotion energy/oscillation energy, etc.).

Measuring matrix parameters and all kinetic energy in in-vivo experiments is very important to obtain a full ethogram of all behaviors that are shown by the laboratory animal. Traditional methods based on observation or video analysis offer only limited information.

The Metris Laboras system enables measurement of all types of kinetic/movement energy while other non-invasive automated systems for behavior detection can only measure the locomotion component of the kinetic energy (e.g. locomotion energy $mv^2/2$). In addition, the matrix method and technology used in Laboras provides a way to measure more behaviors and to recognize them completely automatic and more.

By combining parameters from different systems the matrix will get better and further improve the quality of the research results.

LABORAS – system for fully automatic recognition, recording and analysis of the behavior of small laboratory rodents (rats, mice), based on the analysis of vibration and energy

SONOTRACK-system for recording, playback and visualization of ultrasounds vocalizations in laboratory animals

DSI – system for measuring physiological parameters remotely (without wire measuring pressure, temperature, ECG, EEG, EMG, identification, activity, respiration)

SLEEPSIGN / Kissei-SLEEPSIGN software for automatic detection and deep analysis of sleep stages in the animals on the basis of EEG, EMG signals.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА

БойкоН. В.
Ужгородский национальный университет, медицинский факультет,
Лаборатория молекулярной микробиологии и иммунологии слизистых оболочек
г. Ужгород, ул. Пидгирна, 46, 88000, Украина

Причинно-следственная связь между возникновением заболеваний человека, обусловленных нарушением обмена веществ с его рационом питания, иммунным ответом и состоянием комменсальной микробиоты кишечника на сегодня является доказанной.

Несмотря на это достоверные биологические маркеры для раннего выявления метаболического синдрома и сердечнососудистых заболеваний отсутствуют.

Для выяснения возможной связи между “типичными диагностическими показателями” и предлагаемыми новыми маркерамиранней индикации этих болезней были проведены клинические испытания. При статистическом анализе данных использовали коэффициенты корреляции Пирсона, как наиболее подходящие в данном случае для оценки случайных колебаний величин с так называемым “нормальным распределением”.

У пациентов с диагнозом “метаболический синдром” установлена корреляционная зависимость между снижением титров представителей комменсальной микробиоты кишечника Bifidobacteriumspp., высокими уровнями триглицеридов ($p = 0,51$), холестерина ($p = 0,852$)в сыворотке крови, избыточной массой тела ($p = 0,751$)и превышающими нормальные значения показателями окружности талии, свидетельствующие об “абдоминальном типе” ожирения ($p = 0,656$).КоличествоLactobacillusspp.в кишечнике коррелирует с содержанием гликозилированного гемоглобина в крови ($p = 0,894$) и антикоррелирует с титрами лактозо-положительных *E.coli* ($p = – 0,896$).Высокие концентрации гликозилированного гемоглобина коррелировали с резким увеличением общего IgA в сыворотке крови ($p = 0,894$), продукцией ФНО-α ($p = 0,643$) и снижением секреции IgAs в фильтратесодержимого кишечника ($p = 0,860$), что доказывает право-

мочность воспалительной (иммунной) теорииинициации сахарного диабета (метаболического синдрома).

Уровни триглицеридов и холестерина напрямую связаны с увеличением числа Enterococcusspp. в кишечнике (соответственно, p = 0,83 и p = 0,65) и снижением уровня IL-12 (p = 0,853 и p = 0,636 соответственно). Повышенные уровни IL-10 наблюдали у пациентов с избыточной массой тела (p = – 0,703), высокими значениями гликозилированного гемоглобина (p = –0,764) и холестерина (p = –0,577).

У пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями доминирующими представителями кишечного микробиома оказались потенциально патогенные энтеробактерии. Титры Staphylococcusspp., Candidaspp.и лактозо отрицательной *E.coli* коррелировали с высоким уровнем мочевой кислоты в сыворотке крови (p = 0,994, p = 0,984 и p = 0,694 соответственно). Количество Proteusspp.в содержимом кишечника напрямую связано с локальной секрецией IgA (p = 0,903), тогда как нарастание титров Clostridiumspp.приводило к повышенной секреции TNF-α в сыворотке крови(p = 0,582).

В результате статистической обработки комплекса диагностических параметров, полученных в клиническом эксперименте, предложены ранниемикробиологические и иммунологические маркеры для выявления нарушений обмена веществ организма, ведущихк возникновению диабета, ожирения (метаболического синдрома) и сердечнососудистых заболеваний человека разной тяжести.

MICROBIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL MARKERS IN DIAGNOSTIC OF HUMAN METABOLIC DISEASES

NadiyaV. Boyko
Uzhhorod National University, Faculty of Medicine,
Laboratory of Molecular Microbiology and Mucosal Immunology
46, Pidgirna St., Uzhhorod, 88000, Ukraine

The relationship between the intensity of noninfectious pathologies mainly defined as metabolic disordersandhost immune response, dietary intake andasits commensalgutmicrobiotais generally accepted.

In spite of this proved biological markersfor the detection of human pathologies associated with imbalanced diets including metabolic syndrome andcardiovascular diseasewith increased coronary risk are still missing.There areonly few relevant recent publications describing the changes of microbialorganismsand their possible role in the detection of such diseases.

Classic and modern experimental systems, animal and cells models for the standardization of preclinical study had been improved and applied. In order to find out the possible correlation between "classical diagnostic indicators" and suggested by us earlier markers in indicating of the targeted diseases clinical trials had been performed.The Pearson correlation coefficient based on estimation of random fluctuations of values which characterized the so-called "normal distribution" had been applied for the statistical data analyses.

The strong relationship between the representatives of commensal microbiotaBifidobacteriumspp., being significantly decreased in patients with high levels of tested triglycerides (p = 0,51), serum cholesterol (p = 0,852), overweight (p = 0,751) and exceeded normal values in waist circumference that "abdominal type" of obesity (p = 0,656) had been defined in group in Group of patients with a diagnosis of "metabolic syndrome".

Reduced number of Lactobacillusspp. representatives in gut (fecal) content had a direct linear relationship with a high content of glycosylated hemoglobin in the blood of patients (p = 0,894) and reverse link with a decreasedtiters of lactose-positive E. coli (p = – 0,896).

High concentrations of glycosylated hemoglobin led to a sharp increase in total IgA in the serum of patients (p = 0,894), growth titers TNF-α (p = 0,643) and decreased secretion IgAs in gut content filtrate (p = 0,860), which proves the inflammatory (immune) theory in initiating of diabetes (metabolic syndrome). Indicators of lipid metabolism such as triglycerides and cholesterol are connected with an increasing in number of representatives of Enterococcus spp. in gut (correspondingly p = 0,83 and p = 0,65) and with decreased level of IL-12 (p = 0, 853 and p = 0,636 respectively). Increased levels of IL-10 was observed mainly in patients with excess body weight (p = – 0,703), high levels of glycosylated hemoglobin (p = – 0,764) and high levels of cholesterol (p = – 0,577). Overweight (obesity) or increased waist circumference as a baseline abdominal distribution of adipose tissue were correlated with elevated titers of pathogenic microbiota (excess rate 10^4 CFU/g, p = 0,866).

In patients with cardiovascular diseases with a high coronary risk the potentially pathogenic enterobacteria are dominative representatives in gut microbiome.Staphylococcus spp., Candida spp. (p = 0,994 and p = 0,984) and E. coli lactose-negative correlated with high levels of urine acid detected in the serum (p = 0,694) of the patients. Finally titers of Proteus spp. were accompanied by a significant increasing of secretion of IgA in gut content (p = 0,903); increased number of Clostridium spp. was connected to proportional increasing of TNF-α production (p = 0,582).

Newmicrobiological andimmunologicalbiomarkers as a result of evaluation of allthe complexitydiagnostic parameters had been proposed and probed.The knowledge obtained could be used in medicine forthe earlier detection of primarydisordersand conditions that leadto diabetes, obesity (metabolic syndrome) and cardiovascular disease.

ТЕХНОЛОГИИ ПИЩЕВОЙ И ПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ АПК – ПРОДУКТЫ ЗДОРОВОГО ПИТАНИЯ

Чертов Е.Д.
ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», 394036, Россия, г. Воронеж, проспект Революции, 19.

Технологическая платформа «Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания» – это государственно-частное партнерство, которое позволяет согласовывать действия органов государственной власти различных уровней, науки и бизнеса по ключевым направлениям развития сельского хозяйства, аквакультуры, пищевой и перерабатывающей промышленности. Производство растениеводческой и животноводческой продукции с заранее оговорёнными параметрами при соблюдении исключительно узких допусков на показатели технологических процессов, при высокой производственной дисциплине обеспечат не только качественное выполнение отдельных операций, но и стабильность технологического процесса в целом, высокую эффективность составляющих его сельскохозяйственных и пищевых производств. Единственная возможность получения такого сырья открывается при создании сквозных аграрно-пищевых технологий, позволяющих обеспечить, адресность производимого сельскохозяйственного сырья, полуфабрикатов и готовой пищевой продукции. При этом производство и первичная переработка сельскохозяйственной продукции должны производиться в едином производственно-технологическом цикле, обеспечивающем производство высокотехнологичных продуктов комплексной переработки. Реализация технологической платформы приведет к развитию пищевой и перерабатывающей промышленности АПК РФ, созданию технологического базиса, включающего совокупность «прорывных» сквозных

аграрно-пищевых технологий, для решения проблем продовольственной безопасности, здорового питания населения, и рационального природопользования. Значительно увеличит производство пищевой сельскохозяйственной продукции, обеспечивая при этом более эффективное её использование, а именно, уменьшить потери и повысить выработку продуктов питания из единицы сырья.

TECHNOLOGIES FOR THE FOOD PROCESSING INDUSTRY APC – HEALTHY FOOD

Eugene D. Chertov
FSBEE HPE "Voronezh State University of Engineering Technology",
19, Revolution Avenue Voronezh 394036 Russia

Technology platform "Technologies for the food and processing industry agricultural processing complex – healthy food" is a public- and private partnership, which allows to coordinate the work of different levels public authorities, science and business in the key areas of agriculture, aquaculture, food processing industry.

Production of crop and livestock goods with pre-agreed parameters following only slight variations towards the technological processes indexes with high production discipline will provide not only high-quality performance of individual operations, but the technological process stability as a whole, high efficiency of agricultural and food industries constituents. The only possibility of obtaining such materials appears with the creation of agro-food technologies links to ensure the targeting of produced agricultural raw materials, semi-finished and finished food products. The production and primary processing of agricultural products should be made in the single production technological cycle, ensuring the production of complex processing high-tech products.

Technology platform implementation will lead to the development of the food processing industry of the Russian Federation APC, the technological basis creation, which includes a set of "breaking through" links of the agro-food technologies, to solve the problems of the food safety, the population healthy nutrition, and environmental management. It will increase significantly the manufacture of agricultural products, while providing a more efficient use of it, namely, it will reduce losses and increase the production of food from the raw material unit.

КЛАСТЕРНЫЙ ПОДХОД К СОЗДАНИЮ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Петров В.И., Новиков М.С., Луганченко А.И., Озеров А.А.
Волгоградский государственный медицинский университет,
400131, Волгоград, пл. Павших борцов, 1

Проблема поиска эффективных средств для лечения особо опасных и широко распространенных заболеваний вирусной природы (ВИЧ-1, гепатиты В и С, герпесвирусные инфекции) трансформировалась в XXI веке в многоуровневую междисциплинарную задачу, успешное решение которой возможно только на кластерных принципах организации научного сотрудничества. Примером реализации такого подхода служит открытие нового класса пиримидиновых ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы ВИЧ-1 (NNRTIs), ставшее результатом использования последних достижений биоинформатики (вычислительный прогноз биологической активности и скрининг *in silico* с использованием актуальных данных рентгеноструктурного анализа комплекса обратная транскриптаза – ингибитор) и направленного химического синтеза в ВолгГМУ, широкого противовирусного скрининга *in vitro*, проведенного в ImQuest

BioSciences (Мериленд, США) и Rega Institute for Medical Research (Бельгия), а также исследования механизма действия наиболее активных соединений в Институте молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН. Уникальность новых соединений, сочетающих высокую противовирусную активность, в том числе и в отношении мутантных штаммов ВИЧ-1 [1], с простотой химического строения и легкостью синтеза ставит их в один ряд с самыми перспективными анти-ВИЧ-1 препаратами ненуклеозидной природы III поколения – основой современной высокоинтенсивной антиретровирусной терапии.

1. Novikov M.S., et al. Bioorg. Med. Chem, 2011, 19, 5794-5802.

CLUSTER APPROACH TO THE DEVELOPMENT OF BIOTECHNOLOGY MEDICINES

Petrov V.I., Novikov M.S., Luganchenko A.I., Ozerov A.A.
Volgograd State Medical University,
1, Pavshikh Bortsov Sq., Volgograd, 400131, Russia

The search for effective therapy of life-threatening and widespread viral diseases (e.g. HIV-1, hepatitis B and C, HSV infections) has changed dramatically in the 21st century and has posed a multilevel, interdisciplinary challenge which can be only met using a cluster approach. An example of this approach is the discovery of a new class of HIV-1 non-nucleoside reverse-transcriptase inhibitors (NNRTIs). This discovery resulted from using the latest advancements in bioinformatics (e.g. computational prediction of biological activity and *in silico* screening which employs significant X-ray diffraction data on reverse-transcriptase inhibitors) and those of directed chemical synthesis which was conducted at the Volgograd State Medical University. Extended *in vitro* anti-viral screening conducted by ImQuest BioSciences (Maryland, USA) and Rega Institute for Medical Research (Belgium) as well as investigations into the mechanism of action of the most active substances which was carried out in Engelhardt Institute of Molecular Biology under the Russian Academy of Sciences have also made a considerable contribution to the discovery. The unique new compounds combine a potent anti-viral activity including their effect on mutations in HIV-1 strains [1], and a simple chemical structure. These compounds are easy to synthesize which places them on a par with the most promising third generation anti-HIV-1 NNRTIs which are the mainstay of up-to-date highly active anti-retroviral therapy.

1. Novikov M.S., et al. Bioorg. Med. Chem, 2011, 19, 5794-5802.

ВИХРЕВЫЕ БИОРЕАКТОРЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ-ОДИН ИЗ ЭФФЕКТИВНЫХ ИНСТРУМЕНТОВ РАЗВИТИЯ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ КЛАСТЕРОВ

Рамазанов Ю.А.,
ООО «Центр вихревых технологий» НСО Наукоград Кольцово, Технопарковая д. 1
y.ramazanov@rambler.ru www.vortexreactor.com

Промышленная биотехнология является фундаментом т.н. биоэкономики – пути развития, базирующегося на использовании возобновляемых источников сырья и минимальном отрицательном воздействии на окружающую среду при росте промышленного и сельскохозяйственного производства.

В промышленном биотехнологическом производстве одним из основных звеньев является биореактор, в котором происходит микробиологический синтез, ферментационные процессы или выращиваются культуры клеток или микроорганизмов. Технические характеристики ис-

пользуемых аппаратов во многом определяют себестоимость получаемого продукта и масштаб отрицательного воздействия процесса на окружающую среду.

Специалистами ООО «Центр вихревых технологий»(резидента Технопарка Сколково) созданы вихревые биореакторы нового поколения, которые по универсальности, энергопотреблению, технологичности значительно превосходят существующие типы аппаратов.

Вихревой биореактор – это аппарат, в котором перемешивание жидкости осуществляется структурированным воздушным вихрем, без мешалки, погруженной в жидкость. Этим обеспечивается деликатное, но эффективное 3D перемешивание жидкостей, в том числе вязких, без пенообразования, при снижении в разы энергопотребления.

В настоящее время вихревые биореакторы используются при производстве вакцин, лекарственных препаратов(ФГУП «Армавирская биофабрика», УП «Витебская биофабрика»…), производстве кровезаменителей ООО «Геленпол», производстве микробиологической продукции для сельского хозяйства (ООО Бисолби Интер», ООО «Биотроф»…), ферментативном гидролизе зернового сырья (ЗАО «Племсовхоз Ирмень», ЗАО «Бирюли»…) и т.д.

Вихревые биореакторы нового поколения позволяют заменить не технологичные малопроизводительные роллерные, «яичные», «матрасные» технологии производства вакцин и других лекарственных препаратов, значительно снизив их себестоимость и обеспечивая соответствие требованиям GMP.

В вихревом биореакторе модификации «личный доктор» успешно культивировались стволовые и другие аутологичные клетки человека, что дает возможность их препаративной наработки для персонализированной медицины.

Низкое энергопотребление биореактора может обеспечить возобновление получения кормового белка, потребности в котором оцениваются 5-8млн.тн/год и производство которого было прекращено из за высокой себестоимости процесса.

Использование исследовательскими институтами и промышленными предприятиями биотехнологических кластеров вихревых биореакторов позволит расширить спектр решаемых задач, ускорить внедрение новых разработок в промышленность, повысить технологичность, безопасность производства продукции, снизить ее себестоимость и экологическую нагрузку на окружающую среду, обеспечивая тем самым ускоренное развитие производственной составляющей российских биотехнологических кластеров.

VORTEX BIOREACTORS OF THE NEW GENERATION AS ONE OF EFFECTIVE TOOLS TO DEVELOP THE INDUSTRIAL COMPONENT OF BIOTECHNOLOGICAL CLUSTERS

Ramazanov YA
"Vortex technologies Ltd" 1 Tekhnoparkovaya Str., Koltsovo, 630559
y.ramazanov@rambler.ru www.vortexreactor.com

Industrial biotechnology is the basement of the so-called bioeconomy, the development path based on renewable raw materials and a minimal adverse impact on the environment during the growth of industrial and agricultural production.

One of the main elements of industrial biotechnology is the bioreactor in which the microbiological synthesis and fermentation processes take place or cell cultures or microorganisms are grown. Technical characteristics of the used devices largely determine the cost of the product and the scope of the process negative impact on the environment.

Specialists of the "Vortex technologies Ltd" (resident of the Skolkovo Technopark) created a new generation of vortex bioreactors, which far surpass the existing types of devices in their universal

character, energy consumption and manufacturability.

The vortex bioreactor is a device in which liquid is mixed by a structured air vortex, without a stirrer immersed in liquid. This provides gentle but effective 3D mixing of liquids including viscous ones without foaming at a power consumption decreased by dozens of times.

Vortex bioreactors are currently used for production of vaccines, drugs (FSUE "Armavir Biofactory" UE ""Vitebsk Biofactory"…), blood substitutes at JSC "Gelenpol" and microbiological products for agriculture (JSC "Bisolbi Inter", JSC "Biotroph"...) as well as in enzymatic hydrolysis of raw grain (CJSC "Irmen stock-farm", CJSC "Biryuli" ...), etc.

Vortex bioreactors of the new generation can replace inefficient low-tech roller, "egg" and "mattress" technologies in the production of vaccines and other drugs significantly reducing their costs and ensuring compliance with GMP.

Stem cells and other autologous human cells are successfully cultivated in the vortex bioreactor of the "personal doctor" type, which allows for their preparative production for personalized medicine.

Low power consumption by the bioreactor can allow us to resume the production of feed protein. The need for this feed is estimated at 5-8 mln tons/year, and its production was discontinued because of the high cost of the process.

The use of biotechnological clusters of vortex bioreactors by research institutes and industrial enterprises will expand the range of tasks solved, accelerate the adoption introduction of new developments by industry, improve manufacturability and production safety, will reduce production costs and environmental pressure thus providing rapid development of the industrial component of the Russian biotechnological clusters.

ВОЗРОЖДЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ НА ВЯТСКОЙ ЗЕМЛЕ

ООО Восток

Кировская обл., Омутнинский район

1. История создания биотехнологии на Вятской земле начинается в далеких шестидесятых годах прошлого века.
2. Создание некоммерческого партнерства Кластер по развитию биотехнологий и фармацевтики «Восток» -возрождение биотехнологии на Вятке.
3. Запуск на Востоке производства биологически активных добавок- энтеросорбентов из гидролизного лигнина- результат взаимодействия в рамках созданного кластера.
4. В планах кластера разработка и создание на базе ООО «Восток» производства высокоэффективных композиционных ферментных препаратов для повышения питательной ценности кормов, содержащих растительные источники белка.
5. Восстановление производства ферментных препаратов позволит поставлять на российский рынок необходимые отечественные кормовые добавки.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ИННОВАЦИОННЫЕ ИНСТРУМЕНТЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ И РЕШЕНИЯ НАУЧНЫХ БИЗНЕС-ИДЕЙ

Урва Т.Э.[1], Чупахина Н.Ю.[2], Скрыпник Л.Н.[3], Полтавская Р.Л.[3], Чупахина Г.Н.[3]
[1]*Центр развития и предпринимательства г. Егева. Эстония, г. Егева, 48306, ул. Сююр 3.*
[2]*ФГБОУ ВПО «КГТУ». Россия, г. Калининград, 236000, ул.Советский пр., 1.*
[3]*ФГАОУ ВПО «БФУ им. И.Канта». Россия, г. Калининград 236041, ул. А.Невского, 14.*

Создание технопарков и бизнес-инкубаторов на базе университетов и исследовательских институтов на сегодняшний день широко практикуется во всё мире /1/. Профессиональные виртуальные площадки позволяют увеличить охват вовлечённости в инновационную деятельность территорий, удалённых от научных центров. Нами впервые на русском языке предложен к использованию программный продукт iPlanner.NET в опыте коммерциализации деятельности Лаборатории природных антиоксидантов Химико-биологического Института БФУ им. И.Канта (г. Калининград, Россия).

Определение суммарного количества антиоксидантов в лаборатории проводится по методу Яшина Я.И.на приборе «ЦветЯуза-01-АА» с амперометрическим детектированием /2/. В случаях необходимости уточнения полученных закономерностей используется метод DPPH, адаптированный в Эстонском Университете Естественных Наук, Тарту /1/. Определяется содержание антиоксидантов в основных пищевых продуктах, напитках и пищевом сырье. По результатам таких измерений создаются банки данных. Планируется введение поправок на сорта продуктов и на продолжительность сроков их хранения /1/.

Инструмент iPlanner позволил самостоятельно разработать и модернизировать бизнес план с помощью прикладной программы. Кроме того, появилась возможность получать консультации специалиста, который просматривает проект в реальном времени и диалоговом режиме, а также использовать профессиональную платформу для обсуждения результатов среди коллег из разных стран, что является очень важным в сложном процессе перевода узкой исследовательской практики в область конкурентоспособной коммерческой активности.

1. Урва, Т. Инновационный опыт Тартуского университета в области естественных и технических наук / Т. Урва // Известия КГТУ. – 2012. – №27. – С. 232 - 235.

2. Яшин, А.Я. Природные антиоксиданты. Содержание в пищевых продуктах и влияние их на здоровье и старение человека / А.Я. Яшин, Я.И. Яшин, В.Ю. Рыжнев. – Москва: ТрансЛит, 2009 – 212 с.

INNOVATIVE TOOLS AND SOLUTIONS FOR TRAINING THE SCIENTIFIC BUSINESS IDEAS

Urva T.[1], Tchupakhina N.[2], Skrypnik L.[3], Poltavskaya R.[3], Tchupakhina G.[3]
[1]*Jõgeva County Development and Business Centre. Suur 3, Jõgeva 48306, Estonia.*
[2]*Kaliningrad State Technical University.*
Sovetsky prospect, 1. Kaliningrad 236000, Russia.
[3]*Immanuel Kant Baltic Federal University.*
Nevskogo str., 14. Kaliningrad 236041, Russia.

Nowadays the establishment of technology parks and business incubators on the basis of universities and research institutes is a widespread practice all over the world /1/. Professional virtual platforms enable to increase the involvement of the territories distant from scientific centers into the innovative activity. It is the first time that we offer a software product iPlanner.NET in Russian for commercializing the activity of the Laboratory of natural antioxidants of the Institute of chemistry and biology of Immanuel Kant Baltic Federal University (Kaliningrad, Russia).

In the laboratory the total amount of antioxidants is estimated according to the method of Yashin Y.I.using the analyzer “TsvetYauza-01-AA”with ampere detection. If it is necessary to verify the obtained regularities, the DPPH method is used /2/. This method was adapted in the Estonian University of Life Sciences, Tartu /1/. The content of antioxidants is estimated in basic food products, beverages and edible raw materials. Data banks are created to store the research results. It is planned to add corrections for product varieties and shelf life /2/.

iPlanner tool enabled the independent development and modernization of a business plan with the help of an application program. Moreover, it became possible to consult a specialist, who is looking through the project in real-time and dialogue mode, as well as to use a professional platform to discuss the results among the colleagues from different countries. This point is very important in the complex process of moving a particular research practice into the area of a competitive commercial activity.

1. Urva, T. The innovative experience of the University of Tartu in the field of natural and technical sciences / T. Urva // “Izvestia” Kaliningrad State Technical University – 2012. – №27. – P. 232 - 235.

2. Yashin, A. Natural antioxidants. Their content in food products and their impact on health and ageing process / A. Jashin, J. Jashin, V.Ryznev. – Moscow: TransLit, 2009 – P. 212.

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ В СЕЛЬСКОМ И ЛЕСНОМ ХОЗЯЙСТВАХ»
SECTION "BIOTECHNOLOGY IN THE AGRICULTURE AND FORESTY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЙ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ЭКОНОМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ

Надыкта В.Д., Исмаилов В.Я., Асатурова А.М.
ГНУВНИИ биологической защиты растений
Российской академии сельскохозяйственных наук
350039, Краснодар, п/о 39, ВНИИБЗР

Северный Кавказ является зоной широкого возделывания озимой пшеницы, которой ежегодно засевается 3,5-4,5 млн. га, что обеспечивает до 20% валового сбора зерна в России. Эта культура подвержена воздействию большого комплекса фитопатогенов, среди которых возбудители фузариоза, приводящие к потере урожая до 30-40%. Введенные ограничения на использование пестицидов стимулировали поиск альтернативных методов борьбы с вредными организмами. В связи с этим особое значение приобретает использование экологически безопасных и экономически оправданных приемов защиты растений от возбудителей болезней.Поэтому разработка биотехнологий получения и применения современных конкурентоспособных микробных препаратов для сельского хозяйства становится одной изактуальных задач.

Сотрудниками ГНУ ВНИИБЗР Россельхозакадемиисозданы оригинальныеопытные образцы биопрепаратов на основе аборигенных штаммов бактерий-антагонистов р. *Bacillus*для защиты озимой пшеницы от возбудителей фузариоза, адаптированные к условиям южного региона РФ. Предпосевная обработка семян озимойпшеницы опытными образцами новых биопрепаратов на фоне искусственного заражения возбудителями фузариоза в лабораторно-тепличных условиях обеспечивает биологическую эффективность от 40 до 73% при эффективности биологического эталона Фитоспорин-М, Ж и химического эталона Кинто Дуо, КС 37% и 39% соответственно. Установлено, что опытные образцы новых биопрепаратов увеличивают массу побега и корня растений озимой пшеницы на 13 и 45%, длину побега и корня – на 7 и 22% соответственно.

Проведенные исследования открывают перспективы использования в сельскохозяйственной практике новых биопрепаратов. Новые биопрепараты могут быть использованы для биологической защиты озимой пшеницы в технологиях органического земледелия и в системах интегрированной защиты, существенно снижая пестицидный пресс на агроценозы.

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGIES OF RECEIVING AND APPLICATION OF BIOPREPARATIONSFOR PLANTS PROTECTION AGAINST ECONOMICALLY IMPORTANT PATHOGENS

V.D. Nadykta, V.J. Ismailov, A.M. Asaturova
State Scientific Institution
All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection
Russian Academy of Agricultural Sciences
350039, Krasnodar– 39, VNIIBZR

The North Caucasus is an area of extensive cultivation of fall wheat, which is sown annually 3.5-4.5million he, which provides up to 20% of croppagein Russia. This culture is exposed to defeat

large complex plant pathogens including Fusarium pathogens, yield losses from which can be up to 30-40%.The restrictions on the use of pesticides have stimulated the search for alternative methods of pest control. In this connection special importance is the use of environmentally sound and cost-effective methods of protecting plants against pathogens. Therefore, the development and application of biotechnologies for modern competitive microbial products for agriculture has become one of the priorities.

Staff of ARRIBPP developed the originaltest samples of biopreparationson the basis of indigenous antagonistic bacterial strains ofgenus *Bacillus*to protect fall wheat against *Fusarium* pathogens that are adapted to the conditions of the southern region of Russian Federation. Pre-treatment of seed of fall wheat test samples of new biopreparations against artificial infection *Fusarium* pathogens in laboratory and greenhouse conditions ensures biological efficiency from 40 to 73%, while the efficiency of biological standardPhitosporin-M, L and chemical standardKinto Duo, CS 37% and 39%, respectively. It is found that the test samples of biopreparationsincrease the mass of shoot and root fall wheat by 13 and 45%, the length of the shoot and root – by 7and 22%, respectively.

The undertaked researches open use prospects in agricultural practice of new biopreparations. New biopreparations can be used for biological protection of fall wheat in technologies of organic agriculture and in systems of the integrated protection, significantly reducing a pesticidal press on agrocenosis.

СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА ФИТО- И МИКРОБИОЦЕНОЗЫ

Боме Н.А.[1], **Дударева И.А.**[2], **Боме А.Я.**[3]
[1]*ФГБОУ ГОУ ВПО Тюменский государственный университет*
Россия, 625003 г. Тюмень, ул. Семакова, д. 10
[2]*ФГБУН Тобольская комплексная научная станция*
Уральского отделения Российской академии наук
Россия, 626150 Тюменская область,
г. Тобольск, ул. имени академика Юрия Осипова, д. 15
[3]*ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт*
растениеводства им. Н.И. Вавилова
Россия, 190000, г. Санкт-Петербург, Большая Морская ул., д. 42

Исследования направлены на сохранение и рациональное использование растительных ресурсов в Западно-Сибирском регионе. Осуществляется создание и безопасное хранение генофонда (1437 образцов культурных растений из 58 стран мира и 33 субъектов РФ, 150 штаммов микроорганизмов) (Боме Н.А., Боме А.Я., Колоколова, 2012). Выделены генетические источники устойчивости к био- и абиотическим факторам среды. Активация ростовых процессов, коррекция признаков на фенотипическом уровне, повышение устойчивости к болезням достигается с помощью физиологически активных веществ (пара-аминобензойная кислота, циркон, эпин) с учетом концентраций и способов обработки (Дударева, Боме, 2012). На дерново-подзолистой почве подтаежной зоны Тюменской области выявлено положительное влияние препаратов на способность Triticum aestivum L. использовать элементы питания из почвы. Сорта различались по накоплению химических элементов в листьях, стебле и зерновках.

Репарагенный эффект ПАБК проявляется в снижении повреждающего действия химических мутагенов на семена. Опрыскивание растений ПАБК перед цветением снижает их реакцию на искусственную изоляцию и морфологическую депрессию. Включение в стандартные питательные среды для проращивания пыльцы клевера лугового ПАБК создает благоприятные условия

для расширения генетической изменчивости за счет сохранения большего числа рекомбинантных пыльцевых зерен (Боме, 1996). Оптимизация симбиотической активности и устойчивости к фитопатогенным грибам бобовых растений (на примере Pisum sativum L.) возможна при обработке семян штаммами ризобий, действие которых усиливается в экстремальных условиях (Кривоногова, Колоколова, Боме, 2008).

WAYS TO REDUCE STRESS ON THE PHYTO- AND MICROBIOCENOSES

Bome N.A.[1], Dudareva I.A.[2], Bome A.Y.[3]
[1]*Tyumen State University, Russia, 625003 Tyumen, Semakova Str., 10*
[2]*Tobolsk complex scientific station of the*
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences,
Russia, 626150 Tyumen Region, Tobolsk, Academician Yuri Osipov Str, 15
[3]*All-Russian Research Institute of Plant. N.I. Vavilov (VIR), Russia,*
190000, St. Petersburg, Bolshaya Morskaya Str., 42.

Research focuses on the conservation and sustainable use of plant resources in Western Siberia. Creating and secure storage of the gene pool (1437 samples of cultivated plants from 58 countries and 33 Russian regions, 150 strains of microorganisms) (Bome N.A., Bome A.Y., Kolokolova N.N., 2012). Identified genetic sources of resistance to biological and environmental factors. Activation of growth processes, the correction of at the phenotypic level, increased disease resistance is achieved with a physiologically active compounds (para-aminobenzoic acid, zircon, "Appin" – plant growth regulator) with the concentration and processing methods (Dudareva I.A., Bome N.A., 2012). In conditions sod-podzolic soil zone of taiga the Tyumen area has positive impact of active compounds on the ability of Triticum aestivum L. use the nutrition from the soil. Varieties differ in the accumulation of chemical elements in the leaves, stem and grains.

Effect of para-aminobenzoic acid appears to reduce the damaging effects of chemical mutagens on seeds. Spraying para-aminobenzoic before flowering reduces their reaction to the artificial isolation and morphological depression. Included in the standard culture media for pollen germination of red clover para-aminobenzoic creates favorable conditions for the expansion of genetic variability due to the retention of more recombinant pollen grains (Bome N.A., 1996). Optimization of symbiotic nitrogen fixation and resistance to phytopathogenic fungi of legumes (for example, *Pisum sativum L.)* in the processing of seed strains of rhizobia, the effect of which is enhanced in extreme conditions (Krivonogova A.A., Kolokolova N.N., Bome N.A., 2008).

О ПРИЗНАКЕ ВЫСОКИХ АДАПТИВНЫХ СВОЙСТВ ИНДУЦИРОВАННЫХ СУПЕРМУТАГЕНОМ ЭТИЛЕНИМИНОМ У ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Эйгес Н.С.Волченко Г.А.Волченко С.Г.
Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля
119334 Москва Косыгина 4.

В настоящее время в разных регионах страны ужесточается климат. В связи с этим увеличивается число зон рискованного земледелия. Центральный регион, где мы проводим основные работы по изучению и внедрению метода химического мутагенеза, основанного крупным ученым-генетиком И.А. Рапопортом, также всё больше становится зоной рискованного земледелия. В среднем раз в два года случаются неблагоприятные условия, а раз в 4 года – крайне неблагоприятные условия для выращивания основной культуры в нашей стране – озимой пшеницы.

В связи с этим задача получения признака высоких адаптивных свойств и прежде всего высокой зимостойкости выходит на первое место в селекции этой культуры. В настоящее время, когда многие хозяйства страны сталкиваются с немалыми трудностями, в том числе финансовыми, соблюдение полного комплекта технологий выращивания бывает затруднительно. В первую очередь это касается сортов интенсивного типа, получаемых традиционными методами селекции без использования метода химического мутагенеза. Эти сорта особенно требовательны к соблюдению полного комплекта технологий выращивания. Иначе потенциальные возможности этих сортов, в том числе в отношении урожая, останутся нереализованными. Поэтому всё с большей настоятельностью встает также вопрос о необходимости наличия у сортов озимой пшеницы признака, определяющего нетребовательность к агрофону и технологиям возделывания. При использовании метода химического мутагенеза для получения высокоадаптивных свойств, нетребовательности к агрофону и технологиям возделывания мы нашли наиболее эффективное сочетание супермутагена, его оптимальных доз и высокомутабильного исходного сорта. Именно здесь получено наиболее широкое генотипическое и фенотипическое разнообразие, на основе которого создана коллекция мутантов. Более 40% образцов коллекции показали высокие адаптивные свойства, нетребовательность к агрофону и технологиям возделывания. Сюда входят представители интенсивного и экстенсивного типов, в том числе наши хемомутантные сорта.

ABOUT A SIGN OF HIGH ADAPTIVE PROPERTIES INDUCED BY A SUPERMUTAGEN ETHYLENIMINE ON WINTER WHEAT

Eiges N.S.Volchenko G.A.Volchenko S.G.
Institute of biochemical physics of N.M. Emanuel
119334 Moscow Kosygina 4.

In present time in different regions of the country the climate becomes more tougher. In connection with it the number of speculative agriculture zones are increased. The Central region where we condact out the main works on studying and introduction of a method chemical mutagenese, discovered by large scientist-geneticist I.A. Rapoport, also becomes more increasing a zone of speculative agriculture. On the average time in two years there are unfavourable conditions, and time in 4 years – the extremely unfavourable conditions for cultivation of the main culture in our country – winter wheat. In connection of it the problem of receiving a sign of high adaptive properties and first of all – high hardiness and high drought – resistance appears in selection on the first place of this culture. Now, when many farms of the country meet considerable difficulties, including with financial, the maintain of full a technology complete of cultivation is difficult. First of all it concerns of the varieties of intensive type which were received whisout use of the chemical mutagenesis method and which are especially exacting to observance of full technology complete of cultivation. Differently potential possibilities these varieties, including a harvest, remain unrealized. Therefore with the more insistency arises also a question about presence the sign of simple testes to an agrobackground and to technologies of cultivation of the winter wheat varieties. When using a method chemical mutagenesis for receive high adaptive properties, simple testes to an agrobackground and technologies of cultivation we found the most effective combination of a supermutagen, its optimum doses and a high mutable initial variety. Namely here was received the widest genotipic and fenotipic diversity on the basis of which the collection of winter wheat mutants was created. By the integration of cemical mutagenesis method with traditional methods of selection the diversity also increases. More than 40% of the patterns of collection showed high adaptive properties, simple testes to an agrobackground and to technologies of cultivation. Here enter representatives of intensive and extensive types, including our chemomutant varieties.

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПЕРВИЧНЫХ ЭКСПЛАНТОВ ОЗИМОГО РАПСА (BRASSICA NAPUS L.) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Кляченко О.Л., Никифорова Н.В., Шофолов А.Л.
Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины
Киев, ул. Героев Обороны 15

Рапс (Brassica napus L.) является основной масличной культурой и одним из важнейших источников получения растительного масла как пищевого, так и технического назначения, а также высокобелковых кормов. По количеству производимого растительного масла, рапсу принадлежит третье место в мире после сои и хлопчатника. Метод культуры тканей и органов имеет большое значение для расширения возможностей процессов регенерации клеток и тканей, в частности при организации рациональной системы производства семенного материала. Этим путем можно размножать генетически ценные растения, гетерозисные гибриды, а также стерильные и партенокарпические генотипы.

Объектом исследования были сорта озимого рапса украинской селекции «Алиот», «Нельсон», «Синтетик», «Антария». Семена проращивали на безгормональной питательной среде Мурасиге и Скуга (МС). В качестве эксплантов для дальнейших исследований использовали настоящие и семядольные листки. Для получения прямого морфогенеза експланты культивировали на среде МС дополненой 0,25 мг/л кинетина. Индукцию морфогенного каллуса наблюдали на среде МС дополненой 0,5 мг/л БАП, 0,5 мг/л НУК и 0,05 мг/л $ГК_3$. Для укоренения микророзетки рапса переносили на ризогенную среду, в состав которой входили макроэлементы (концентрация разведена в два раза), микроэлементы, витамины МС и 2% сахароза.

Таким образом, были изучены морфогенетические особенности первичных эксплантов при культивировании на оптимально подобранных каллусогенных и регенерационных средах. Доказана приимущественная эффективность непрямого морфогенеза исследуемых сортов озимого рапса. Разработаный комплекс биотехнологических приёмов может успешно использоваться в традиционной селекции и служить основой для создания новых сортов и гибридов, размножения селекционного материала.

THE STUDY OF MORPHOGENETIC FEATURES OF PRIMARY EXPLANTS OF WINTER RAPE (BRASSICA NAPUS L.) *IN VITRO*

Klyachenko O.L., Nikiforova N.V., Shofolov A.L.
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine
Kyiv, Heroev Oborony st.,15, 03041, Kyiv

Rapeseed (Brassica napus L.) is the major oilseed crop and one of the most important sources of vegetable oil in a food and industrial usage, as well as high-protein feed. According to the number of produced oil, rapeseed is the third in the world after soybean and cotton. The method of tissue and organ culture is important for empowering the processes of cells and tissues regeneration, in particular during the organization of a rational system of seed production. In this way it is possible to reproduce genetically valuable plants, heterotic hybrids, as well as sterile and parthenocarpic genotypes.

The object of investigation was types of winter rape of Ukrainian selection "Aliot", "Nelson", "Synthetic", "Antariya". Seeds were germinated on the non-hormonal Murashige and Skoog (MS) medium. As explants for further research real and cotyledonous leaves were used. For the direct morphogenesis explants were cultivated on MS medium laced with 0.25 mg/l kinetin. Induction of morphogenic callus was observed on MS medium laced with 0.5 mg/l BAP, 0.5 mg/l NAA and 0.05

mg/l GA. Rooting of rape microrosettes were transferred on medium for rhizogenesis laced with macronutrients (concentration diluted twice), microelements, vitamins, MS and 2% sucrose.

Thus, we have studied morphogenetic peculiarities of primary explants during cultivation on optimal media for callusogenesis and regeneration. The effectiveness of indirect morphogenesis of winter rape was shown. Complex of biotechnological techniques can be successfully used in traditional breeding and provide a basis for development of new varieties and hybrids, and breeding material.

БИОТЕХНОЛОГИЯ И ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ

Лутова Л.А.
Санкт-Петербургский государственный университет
199034, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7/9

Сегодня благодаря использованию методов биотехнологии начали вскрываться молекулярно–генетические механизмы, лежащие в основе бурно развивающегося направления – биологии развития растений. Наряду с традиционными методами генетического анализа, активно используются методы генной и клеточной инженерии, в первую очередь, методы трансформации, с помощью которых можно решать многие проблемы – от получения мутантов до клонирования мутантного гена и изучения его функции. Получение мутантов – это основной инструмент генетических исследований. Методы Т-ДНК инсерционного и транспозонного мутагенеза имеют неоспоримые преимущества по сравнению с химическим мутагенезом – они позволяют идентифицировать ген со вставкой за счет ”вытягивания” за транпозон или Т-ДНК. Так были идентифицированы многие гены, контролирующие развитие растений. При использовании Т-ДНК инсерционного мутагенеза с векторами активирующего типа можно получить доминантные мутации, вызванные их эктопической активностью. Трансгенные растения используют и для изучения функции гена, изменяя за счет промотора активность исследуемого гена. Для изучения функции гена также используют целенаправленное изменение его последовательности, применяя трансформацию и гомологичную рекомбинацию, которая в целом затруднена у растений. Для увеличения частоты рекомбинации у растений, получают трансгенные растения с белками, вовлеченными в рекомбинацию – RecA бактерий и RAD54 дрожжей. Специфическое встраивание осуществляют также с использованием сконструированных белков – ферментов нуклеаз, сшитых с доменном ”цинковые пальцы”. Использование таких белков позволяет получать мутации в интересующих генах и осуществлять направленное их изменение. Для изучения функции гена активно используют механизм РНК- интерференции, подавляя транскрипцию гена-интереса. Растение трансформируют конструкцией, содержащей фрагменты гена-мишени в прямой и обратной ориентации, часто между повторами помещают интрон, что способствует стабилизации двуцепочечной РНК. Для изучения процессов развития важным является наличие промоторов, энхансеров, специфичных для определенных тканей и стадии развития. Для поиска таких регуляторных последовательностей также используют Т-ДНК мутагенез, включая в Т-ДНК последовательность репортерного гена. Метод трансформации растений используют и для получения химер растений, которые являются важным инструментом для изучения взаимодействия клеток и выявления генов, контролирующих эти функции. Для этого используют следующие подходы – получение структурно-генетических химер с использованием транспозонного мутагенеза или индуцирование соматической рекомбинации, вызывающей удаление трансгена из отдельных клеток. Кроме того, для создания функционального химеризма, используют специфические промоторы для экспрессии трансгена в отдельных тканях. Таким образом, современная биотехнология, основанная на методах рекомбинантной ДНК (генная инженерия)

и методах культивирования растительных тканей *in vitro* (клеточная инженерия) является главным инструментом в решении фундаментальных проблем биологии и, в частности, биологии развития растений.

BIOTECHNOLOGY AND FUNDAMENTAL RESEARCH ON THE PLANT DEVELOPMENTAL GENETICS

L.A. Lutova, Professor
199034, St. Petersburg State University, Universitetskaya embassy, 7/9
Department of genetics and biotechnology

Today, thanks to the use of modern methods of biotechnology, the molecular-genetic mechanisms underlying different aspects of plant development are started to open up. Along with the traditional methods of genetic analysis, plant developmental genetics actively uses the techniques of genetic engineering – primarily methods of plant transformation, allowing to solve many problems – from obtaining of mutants to cloning of the gene of interest and study of its functions. Obtaining of mutants is the main tool of genetic research. Methods of T-DNA insertion mutagenesis and transposon mutagenesis have indisputable advantages in comparison with the chemical mutagenesis – in particular, they allow to identify a gene with an insert by «pulling out» the transposon or T-DNA. Many genes that control plant development were identified by these methods. Transgenic plants are used to study the function of the genes changing due to the promoter activity – in particular, using T-DNA-insertion mutagenesis with activating type of vectors dominant mutations caused by ectopic activity of genes can be obtained. Another way for study the function of the gene is the directed change of its sequence using the transformation and homologous recombination, which in general is difficult for plants. To increase the frequency of recombination, transgenic plants expressing genes involved in the recombination control – bacterial RecA and yeast RAD54 - are used. Specific DNA insertion may be also carried out by genetically engineered proteins – enzymes nuclease cross-linked with the zinc fingers domain. One of often used methods of study gene function is based on RNA interference mechanism which inhibits transcription of the gene of interest. Vector for RNA interference of plant gene includes the structure, containing fragments of target gene in the direct and reverse orientation; the intron often placing between them contributes to the stabilization of the double-stand RNA. Study of plant promoters, enhancers, specific to certain tissues and stage of development is also of great importance for study of developmental processes. To search for such regulatory sequences also use the T-DNA mutagenesis method, where inserted DNA includes the sequence of reporter gene. Method of plant transformation are also used to produce chimeras plants, which are important tools for the study of the cell-to-cell communications, and the identification of genes that control these functions. Several approaches are used for create chimera plants; e.g. obtaining of the structural-genetic chimeras using transposon mutagenesis or induction of somatic recombination, causing the destruction of transgene from individual cells. In addition, to induce a functional chimerism, specific promoters for the expression of transgene in certain tissues are used. Thus, modern biotechnology, based on the techniques of recombinant DNA (genetic engineering) and methods of cultivation of vegetable tissues *in vitro* (cell engineering) is the main instruments in solving the fundamental problems of biology and in particular genetics of plant development.

The work was supported by RFBR grants 11-04-01687a and 11-04-01689, SPbU grants 1.38.67.2011, and 02.740.11.0698, grant of President of RF for supporting of leading scientific schools 5345.2012.4.

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ, ГОМОЛОГИЧНЫЕ Т-ДНК *AGROBACTERIUMRHIZOGENES*, В ГЕНОМАХ РАСТЕНИЙ РОДА *LINARIA*

Матвеева Т.В., Богомаз Д.И., Павлова О.А., Лутова Л.А.
Санкт-Петербургский государственный университет,
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

Горизонтальный перенос генов в природных условиях возможен между прокариотами и эукариотами. Один из наиболее изученных примеров такого переноса – это присутствие последовательностей из *Agrobacteriumrhizogenes* в геномах некоторых видов рода *Nicotiana*. Для выявления новых примеров горизонтального переноса генов между агробактериями и растениями в природе мы применили подход, основанный на ПЦР в реальном времени и проскринировали около200 видов двудольных растений из 38 семейств на наличие Т-ДНК-подобных последовательностей *Agrobacteriumtumefaciens* и *Agrobacteriumrhizogenes*. Среди проанализированных видов мы обнаружили, что *Linariavulgaris* содержит последовательности, гомологичные Т-ДНК*A. rhizogenes.* Все проанализированные растения *L. Vulgaris* из различных частей России содержали последовательности, гомологичные *rolB, rolC*, *ORF13, ORF14* и *mis* (ген микимопинсинтазы). Тот же ген биосинтеза опинов был найден в видах рода *Nicotiana*, содержащих Т-ДНК *A. rhizogenes*. У*L. vulgaris*, Т-ДНК организована, как несовершенный прямой повтор. ТРастительная ДНК в области сайта интеграции Т-ДНК имеет сходство с ретротранспозоном. Исследования других представителей рода *Linaria* показывают, что Т-ДНК-содержащие виды формируют монофилетическую группу. Детальный анализ Т-ДНК yL.vulgarisиL.dalmatica показывает, что наиболее консервативным геном Т-ДНК является *rolC*. Он может кодировать полноразмерный белок. Обсуждаются две возможные функции клеточной Т-ДНК– увеличение способности к вегетативному размножению, а также изменение биологического окружения, в частности – почвенной микрофлоры, такой как микроорганизмы ризосферы. Наши исследования показывают, что частота переноса генов от агробактерий и фиксация их в ряду половых поколений у растений является достаточно редким событием в природе. This work was partially carried out in the resource center for St. Petersburg State University “The development of molecular and cellular technologies” within the framework of the the maticplan 0.37.87.2011 “Metagenomic analysis of microbiome as a highly integrated multi-Biosphere “interface”

SEQUENCES HOMOLOGOUS TO *AGROBACTERIUMRHIZOGENES*, IN THE GENOMES OF *LINARIA*PLANTS

Matveeva T.V., BogomazD.I., Pavlova O.A., LutovaL.A.
St.Petersburg StateUniversity, 199034, St.Petersburg, Universitetskayaemb, 7/9

Genescanbetransferredhorizontally between prokaryotes and eukaryotes in nature. The best studied examples occur between Agrobacterium rhizogenes and certain Nicotiana species. To investigate possible additional cases of horizontal gene transfer in nature between Agrobacterium and plants, a real-time PCR-based approach was employed to screen 200 plant species, belonging to 38 families of Dicotyledones, for the presence of oncogenes homologous to the T-DNA from both Agrobacterium tumefaciens and Agrobacterium rhizogenes. Among all of the analyzed plant species, we found that only Linaria vulgaris contained sequences homologous to the T-DNA of A. rhizogenes. All screened L. vulgaris plants from various parts of Russia contained the same homologous sequences, including rolB, rolC, ORF13, ORF14 and mis (mikimopine synthase) genes. The same opine gene is found in the species of Nicotiana which contain genes of A. rhizogenes. In L. vulgaris, the T-DNA is organized as two tandem imperfect direct repeats. The plant DNA sequence of the site of integration shows simi-

larity to a retrotransposon. Study of other Linaria species have shown, that T-DNA containing species form monophyletic group. Detailed analysis of T-DNA in L.vulgaris and L.dalmatica have shown, that the most conservative gene in T-DNA is rolC. It can code full sized protein. Two possible functions of cT-DNA are discussed – increasing vegetative propagation ability, and changing the biological environment, in particular, of the soil microflora such as the root-associated bacterial population. Our study indicates that the frequency of gene transfer and fixation in the germline from Agrobacterium to plant hosts is rare in the natural environment.

This work was partially carried out in the resource center for St. Petersburg State University "The development of molecular and cellular technologies" within the framework of the the maticplan 0.37.87.2011 "Metagenomic analysis of microbiome as a highly integrated multi-Biosphere "interface"

ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)

Неустроев М.П.,
заместитель директора по научной работе, д. в.н.
ГНУ Якутский научно-исследовательский институт
сельского хозяйства Россельхозакадемии
677001, г. Якутск, ул. Бестужева-Марлинского 23/1

Разработаны новые ветеринарные препараты: вакцина против мыта, сальмонеллезного аборта и пробиотик «Сахабактисубтил». Изыскание новых лекарственных средств продолжается. Обоснована необходимость государственной поддержки дальнейшего развития научных исследований и организации производства.

Преимуществом российских иммунобиологических лекарственных средств должно быть изготовление их из «местных» штаммов микроорганизмов, которое обуславливает высокую специфичность и эффективность.

ЯНИИСХ разработаны, апробированы, утверждены Россельхознадзором и внедряются:

- вакцина инактивированная против мыта с иммуномодулятором. Иммунизация вакциной предохраняет от заболевания до 95% молодняка лошадей. Экономический эффект на 1 рубль затрат 7 рублей;

-вакцина инактивированная против сальмонеллезного аборта с иммуномодулятором. Иммунизация кобыл в неблагополучных пунктах повышает деловой выход на 15-23%. Экономический эффект на 1 рубль затрат 10,7 руб.;

- пробиотик «Сахабактисубтил» для профилактики и лечения дисбактериозов телят и поросят. Препарат предохраняет от диарейных заболеваний 96-100% новорожденных телят и поросят. Лечебный эффект – 81-100%. Экономический эффект на 1 рубль затрат 10-17 рублей.

В настоящее время Якутским НИИСХ разрабатываются: вакцина «Эквибакт» против мыта; усовершенствованная вакцина против сальмонеллезного аборта; инактивированная вакцина против ринопневмонии; ассоциированная вакцина против ринопневмонии и сальмонеллезного аборта и мыта лошадей.

Якутским НИИСХ в 2000-2012 гг. разработаны пробиотические препараты и технологии их применения: профилактика и лечение желудочно-кишечных болезней пушных зверей; профилактика и лечение дисбактериозоз птиц; профилактика и лечение болезней органов дыхания северных оленей; профилактика и лечение болезней органов дыхания лошадей табунного содержания; профилактика послеродовых осложнений коров; препарат «Пантобакт» для лечения гнойно-некротических ран; профилактика микотоксикозов животных; профилактика наруше-

ний обмена веществ у крупного рогатого скота; метод повышения переваримости кормов лошадей; технология санации кормов пушных зверей; технологии санации и способ повышения качества яиц кур; технология санации ледников для хранения кормов пушных зверей; технология обеззараживания птичьего помета и навоза; технология консервирования силоса путем добавления микробного препарата.

По новым направлениям использования пробиотических препаратов следует разработать НТД, утвердить в Россельхознадзоре. Организовать экспериментальное и затем промышленное производство.

ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS OF VETERINARY BIOTECHNOLOGY IN THE REPUBLIC OF SAKHA (YAKUTIA)

Neustroev M.P.,
the Deputy Director for Science, Doctor of Veterinary Sciences
The Yakut Research Institute of Agriculture RAAS
677001, Bestuzheva-Marlinskovo Str. 23/1

The new veterinary drugs developed: a vaccine against the Horse Strangle, Salmonella abortion and probiotic “Sakhabaktisubtil.” The search for new drugs continues. The necessity of state support for the further development of scientific research and production organization.

The advantage of the Russian immunobiological medicines should be the making out of them the “local” cultures of microorganisms, which causes high specificity and efficiency.

The institute developed, tested, approved by Rosselkhoznadzor and implemented:

- An inactivated vaccine against the Horse Strangle with immunomodulator. Vaccination protects against disease and 95% of young horses. The economic effect on 1 ruble costs 7 rubles;
- inactivated vaccine against Salmonella abortion with immunomodulator. Immunization of mares in disadvantaged areas to increase business output 15-23%. The economic effect on 1 ruble costs 10.7 rubles;
- probiotic “Sakhabaktisubtil” for prevention and treatment of calves’ and piglets’ dysbacteriosis. The drug prevents 96-100% diarrhea of newborn calves and piglets. Therapeutic effect is 81-100%. The economic effect on 1 ruble costs 10-17 rubles.

Currently the Yakut Scientific Research Institute of Agriculture has been developing: the vaccine “Ekvibakt” against the Horse Strangle, improved vaccine against Salmonella abortion, inactivated vaccine against rhinopneumonia, associated vaccine against Salmonella abortion, rhinopneumonia and the Horse Strangle.

In 2000-2012 the Yakut Scientific Research Institute of Agriculture developed probiotic preparations and application technologies: prevention and treatment of gastrointestinal diseases of fur animals, prevention and treatment of bird dysbacteriosis prevention and treatment of respiratory diseases of reindeer, prevention and treatment of respiratory diseases of herd keeping horses, prevention of obstetric complications of cows, drug “Pantobakt” for treatment of necrotic wounds, prevention of mycotoxicosis of animals, prevention of metabolic disorders in cattle, the method of increasing digestibility of horses, renovation technology of feeding fur animals, renovation technology and method for increasing the quality of chicken eggs, a technique for the rehabilitation of the glaciers for feed storage of fur beasts, disinfection technology of poultry manure, silage preservation technology by adding microbial drug.

New uses for probiotics should develop a reference document and approve it by Rosselkhoznadzor. To organize experimental, and then commercial production.

РЕЗУЛЬТАТЫ БИОКОНВЕРСИИ ОТХОДОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА МЕТОДОМ ГЛУБИННОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ

Павловская Н.Е., Горькова И.В., Солохина И.Ю., Дедков В.Н., Гагарина И.Н.
ФГБОУ ВПО «Орловский государственный аграрный университет»
302019, г. Орел, ул. Генерала Родина, 69

В мире каждый год накапливаются большие запасы малоиспользуемых органических отходов сельскохозяйственного производства, которые можно перерабатывать в кормовые добавки высокопродуктивными штаммами микроорганизмов, обладающими целлюлолитическими свойствами.

Особый интерес в качестве субстрата для культивирования микроорганизмов и получения микробного белка представляет возобновляемое растительное сырье, использующее солнечную энергию и углекислоту воздуха. Растительные отходы и побочные продукты переработки сельскохозяйственного сырья можно использовать в животноводстве при их утилизации методом глубокой ферментации.

Микробиологическая обработка целлюлозосодержащих материалов (соломы пшеницы) биопрепаратом «Байкал ЭМ-1» снижает содержание полисахаридов в среднем на 47,86 - 56,14%, лигнина на 72,67 - 78,38%, увеличивает выход «сырого» протеина на 1,41 - 4,02%. Биодеструкция целлюлозосодержащих материалов эффективна при использовании прогидролизованного субстрата с внесением «индуктора» биосинтеза целлюлолитических ферментов (раствор лактозы). Содержание редуцирующих веществ в таких продуктах выше на 16,27 - 23,54% чем в исходном сырье. Техническим результатом исследования является выход кормовых продуктов, богатых биологически активными пребиотическими и пробиотическими компонентами.

При использовании грибов рода Trichoderma в биоконверсии соломы злаковых культур получены белково-углеводные кормовые продукты для животноводства с содержанием «сырого» протеина около 14,04% и «сырой» клетчатки – 18,84. По стандартной методике определена биологическая безопасность полученных продуктов.

RESULTS OF BIOCONVERSION OF WASTE OF AGRICULTURAL PRODUCTION METHOD OF A DEEP FERMENTATION

Pavlovskay N.E., Gorkova I.V., Solokhina I. Yu, Dedkov V.N., Gagarina I.N.
Orel state agrarian university,
Orel, street of the General Rodina, 69.

In the world large supplies of low-used organic waste of agricultural production which can be overworked in feed additives highly productive strains of the microorganisms possessing tsellyulolitichesky properties every year collect.

The particular interest as a substratum for cultivation of microorganisms and receiving microbic protein represents the renewable vegetable raw materials using solar energy and carbonic acid of air. Vegetable waste and by-products of processing of agricultural raw materials can be used in animal husbandry at their utilization by a method of a deep fermentation.

Microbiological processing of tsellyulozosoderzhashchy materials (wheat straw) a biological product "Baikal EM-1" lowers the content of polysaccharides on the average by 47,86 - 56,14%, a lignin for 72,67 - 78,38%, increases an exit of a "crude" protein to 1,41 - 4,02%. Biodestruction of tsellyulozosoderzhashchy materials is effective when using the pro-hydrolyzed substratum with introduction of "inductor" of biosynthesis of tsellyulolitichesky enzymes (lactose solution). The content of reducing substances in such products is 16,27 - 23,54% higher than in initial raw materials.

Technical result of research is the exit of the fodder products rich with biologically active prebiotichesky and pro-biotic components.

When using mushrooms of the sort Trichoderma in bioconversion of straw of cereal cultures proteinaceous and carbohydrate fodder products for animal husbandry with the maintenance of a "crude" protein about 14,04% and "crude" cellulose – 18,84 are received. Biological safety of the received products is determined by a standard technique.

РАЗРАБОТКА НОВЫХ СЕРИЙ БИОПРЕПАРАТА РИЗОВИТ-АКС ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯУРОЖАЙНОСТИ БОБОВЫХ КУЛЬТУР И ПЛОДОРОДИЯ ПОЧВ В КАЗАХСТАНЕ

Саданов А.К., Айткельдиева С.А., Байгонусова Ж.А., Таубекова Г.К., Усикбаева М.А., Ултанбекова Г.Д.
РГП Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК,
Алматы, Казахстан

Современное состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса Казахстана тесно связаны с регулированием уровня плодородия почв. Главным критерием этого является обеспечение максимальной урожайности сельскохозяйственных культур в различных почвенно-климатических условиях. Приоритетными являются технологии, обеспечивающие рациональное использование земельных ресурсов, сохранение и повышение почвенного плодородия, получение стабильной урожайности и высокое качество продукции растениеводства.

В РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК для повышения урожайности бобовых культур разработан новый отечественный биопрепарат «Ризовит-АКС», полученный на основе штамма клубеньковых бактерий *Bradyrhizobiumjaponicum*АКС-1, приспособленного к почвенно-климатическим условиям Казахстана. Урожаи зерна сои при обработке семян препаратом «Ризовит-АКС» увеличиваются на 25 - 30%.Содержание общего азота у растений возрастает на 26 - 29%, накопление азота в зерне – на 27-35%. В почве на 1 гектар посевных площадей накапливается 250-300 кг биологического азота, который служит основным источником питания для сельскохозяйственных растений в течение трех лет.

В связи с расширением площади бобовых культур в Казахстане и увеличением их севооборотаразрабатываются новые сериибиопрепарата «Ризовит-АКС». Из ризосферы сои, люцерны, гороха, нута и чечевицы получены новые аборигенные штаммы клубеньковых бактерий, обладающие высокой азотфиксирующейспособностью и видовой специфичностью. Отобраны штаммы клубеньковых бактерий для разработки новых препаратов, превосходящие по азотфиксирующей активности контрольные варианты в 2,6 раза для люцерны, 4,4 раза для гороха, 5,5 раза для нута и 1,4 раза для чечевицы.

DEVELOPMENT OF NEW SERIES OF BIOLOGICAL PRODUCT RIZOVIT-AKS TO INCREASE YIELD OF LEGUMINOUS CROPS AND SOIL FERTILITY IN KAZAKHSTAN

Sadanov A.K.,Aitkeldieva S.A., Baigonusova G.A., Taubekova G.K., Usikbaeva M.A., Ultanbekova G.D.
RSOE "Institute of Microbiology and Virology", Committee of Science,
Ministry of Education and Science, Republic of Kazakhstan, Almaty

The current state and prospects of agro-industrial complex development in Kazakhstan are closely related to the regulation of the soil fertility level. The main criterion for this is to ensure maximum

crop yield under different soil and climatic conditions. Priority is given to technologies that provide rational use of land resources, preservation and improvement of soil fertility, getting a stable yield and high quality of crop production.

In the RSOE "Institute of Microbiology and Virology", CS MES RK, to increase yield of leguminous crops, a new domestic biological preparation "Rizovit-AKS" produced on basis of the nodule bacteria strain *Bradyrhizobiumjaponicum* AKS-1, and adapted to the soil and climatic conditions of Kazakhstan, was developed. Yields of soybean seeds under the treatment with the preparation "Rizovit-AKS" is increased by 25-30%. Total nitrogen content in plants increases by 26-29%, and nitrogen accumulation in the seeds – by 27-35%. The soil accumulates 250-300 kg of nitrogen per 1 hectare of sown area, which is the main plant nutrient for crops during three years.

With the expansion of the area for leguminous crops in Kazakhstan and increase their crop rotation new series of biological preparation "Rizovit-AKS" are being developed. From the rhizosphere of soybean, alfalfa, peas, chickpeas and lentils new indigenous strains of nodule bacteria with high nitrogen-fixing ability and species specificity were produced. Strains of nodule bacteria were selected to develop new preparations that exceed the control group in the nitrogen-fixing activity by 2.6 times for alfalfa, 4.4 for peas, 5.5 for chickpeas, and 1.4 for the lentils.

СТИМУЛЯЦИЯ РОСТА ЛЕСНОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА С ОТКРЫТОЙ КОРНЕВОЙ СИСТЕМОЙ АЗОТФИКСИРУЮЩИМИ И ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИМИ РИЗОБАКТЕРИЯМИ

Сафронова Г.В.[1], Алещенкова З.М.[1], Мельникова Н.В.[1], Падутов В.Е.[2], Острикова М.Я.[2]
[1]*Институт микробиологии НАН Беларуси,*
220141, Минск, Республика Беларусь
e-mail: hsafronava@mail.ru
[2]*ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»,*
246001, Гомель, Республика Беларусь

Одной из главнейших проблем современного лесовосстановления в Беларуси, является улучшение обеспечения сеянцев и саженцев древесных культур азотом и фосфором. Экологически безопасным и экономически выгодным источником «биологического» азота и фосфора являются микробные препараты на основе азотфиксирующих и фосфатмобилизующих ризобактерий.

Из ризосферных микробоценозов однолетних сеянцев сосны обыкновенной и ели европейской выделили 41 изолят ризобактерий. Из 20 изолятов олигонитрофильных ризобактерий азот атмосферы фиксировали 14. Их нитрогеназная активность находилась в пределах от 24,6 до 148,4 нМоль C_2H_4/фл./сут. Диаметры зон растворенных фосфатов кальция на агаризованной глюкозо-аспарагиновой среде 21 бактериальным изолятом составляли 6–20 мм.

Обработка семян деревьев хвойных пород азотфиксирующими (Е10, 2/3) и фосфатмобилизующими (53, П2/1, Ф22) ризобактериями увеличивала энергию прорастания и всхожесть семян сосны в модельных экспериментах в среднем на 15, длину проростков и сухой вес – на 36%, ели – на 20 и 55% соответственно. Полевая всхожесть семян сосны при обработке штаммом Е10 была превышала контроль на 34%. Средняя высота проростков в варианте с применением Е10 составила 2,1 см (в контроле1,8 см). Максимальный прирост стволиков (5,5 см) выявлен при обработке по вегетации однолетних сеянцев сосны штаммами Е10 и 53. Установлено, что ризобактерии-фитостимуляторы Е10, 2/3, 53, П 2/1 и Ф22 синтезируют 33,0–157,0 мкг ИУК/мл культуральной жидкости (L-trp 0,05%).

Таким образом, в качестве основы нового микробного препарата для стимуляции роста лесного посадочного материала деревьев хвойных пород отобраны ризобактерии, обладающие

комплексом хозяйственно-ценных свойств: ростстимуляция, обусловленная синтезом β-ИУК, азотфиксация (Е10, 2/3) и фосфатмобилизация (53, П2/1, Ф22).

GROWTH STIMULATION OF AFFORESTATION STOCK WITH OPEN ROOT SYSTEM BY NITROGEN- FIXING AND PHOSPHATE-MOBILIZING RHIZOBACTERIA

Safronova H.V.[1], Aleschenkova Z.M.[1], Melnikova N.V.[1], Padutov V.E.[2], Ostrikova M.Y.[2]
[1]*Institute of Microbiology Belarus National Academy of Sciences,*
220141, Minsk, Belarus
e-mail: hsafronava@mail.ru
[2]*Institute of Silviculture Belarus National Academy of Sciences,*
246001, Gomel, Belarus

One of key challenges for modern forestation in Belarus is upgrading phosphorus and nitrogen nutrition of arboreous seedlings and plantlets. Microbial preparations based on nitrogen-fixing and phosphate-mobilizing rhizobacteria are ecologically safe and economically profitable sources of biological nitrogen and phosphorus. 41 isolates of rhizobacteria were isolated from microbial cenoses of spruce and pine yearlings. 14 out of 20 oligonitrophilic rhizobacterial isolates were able to fix atmospheric nitrogen. Their nitrogenase activity varied from 24.6 to 148.4 nMole C_2H_4/vial/day. Diameter of dissolved calcium phosphate zones on glucose-asparagine agar medium inoculated with 21 bacterial isolate ranged from 6 to 20 mm.

Treatment of conifer seeds with nitrogen-fixing (E10, 2/3) and phosphate- mobilizing (53, П2/1, Ф22) rhizobacteria increased sprouting energy and germination rate of pine seeds in model experiments by an average value of 15%, length and dry weight of seedlings by 36%, whereas for spruce seeds the rise in respective values constituted 20% and 55%. Germination rate of pine seeds treated with strain E10 exceeded control by 34% in field experiment. Average height of seedlings in E10 case equaled 21 cm (compared with 1.8 cm in the control).

Maximal increment in stem length (5.5 cm) was revealed when vegetating pine yearlings were treated with strains E10 and 53. It was found that phytostimulating rhizobacteria E10, 2/3, 53, П2/1, Ф22 synthesized 33.0–157.0 µg IAA/ml cultural liquid (L-trp 0,05%).

Summing up, rhizobacteria characterized by a complex of valuable properties: growth stimulation determined by β-IAA synthesis, nitrogen-fixation (E10, 2/3) and phosphate-mobilization (53, П2/1, Ф22) were selected as a basis of a novel microbial preparation promoting growth of coniferous planting stock.

НОВЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА СТРУКТУРЫ МЕТАГЕНОМА ДЛЯ МОНИТОРИНГА АГРОЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ

Першина Е.В.[1], Андронов Е.Е.[1], Дольник А.С.[2], Тамазян Г.С.[2], Проворов Н.А.[1]
[1]*ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии,*
196608 г. Санкт-Петербург–Пушкин, ш. Подбельского, 3.
[2]*Санкт-Петербургский государственный университет,*
199034 г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7-9.

С использованием модели естественного и искусственного почвенного засоления проведен анализ динамики метагенома микробного сообщества почвы в стрессовых условиях. С использованием традиционных биоинформационных подходов было показано, что солевой стресс приводит к изменению таксономической структуры метагенома на уровне фил, семейств, ро-

дов и видов (операционных таксономических единиц) бактерий и архей. Как в случае естественного, так и в случае искусственного засоления в микробном сообществе увеличивалась доля бактерий из фил Firmicutes и Bacteroidetes. Одновременно с этим изменялся состав семейств доминирующей в данных почвах филы Actinobacteria с типичных для незасоленных участков семейств Solirubrobacteriaceae и Rubrobacteriaceae на семейства Nocardioidaceae и Streptomycetaceae (в случае искусственного засоления) и на неатрибутируемые семейства актинобактерий (в случае естественного засоления). Проведенный анализ выявил ряд методологических проблем, связанных с использованием метагеномных данных в мониторинговых исследованиях, для их решения в работе были предложены два новых метода метагеномного анализа. Первый метод связан с использованием модели линейной регрессии для ранжирования таксономических групп бактерий по их отношению к стрессу (галофильные, галотолерантные, негалофильные микроорганизмы) и может быть использован для выявления индикаторов уровня почвенного засоления. Второй метод основан на использовании математической модели таксономического пространства (ТП), которая позволяет оценивать глубину и направление сукцессии микробного сообщества при стрессовом воздействии, оперируя интегральными параметрами, описывающими его структуру (центральная точка) и динамику (вектор смещения центральной точки). Предложенные методы позволяют сравнивать таксономические структуры микробных сообществ, формирующиеся при действии экологических факторов различной природы и силы воздействия. В перспективе планируется использовать данные подходы не только для мониторинга агроэкологического состояния почв при стрессовых воздействиях, но и для оценки их плодородия, которая может быть дана на основе анализа метагеномов 400 образцов почв, собранных в основных почвенно-климатических регионах РФ.

Работа поддержана грантом РФФИ 12-04-01371-а и Программой поддержки фундаментальных исследований по приоритетным направлениям Санкт-Петербургского государственного университета.

NEW METHODS FOR THE ANALYSIS OF SOIL METAGENOME TO MONITOR SOIL AGROECOLOGICAL PROPERTIES

Pershina E.V.[1], **Andronov E.E.**[1], **Dolnik A.S.**[2], **Tamazyan G.S.**[2], **Provorov N.A.**[1]
[1]*All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology,*
196608, Saint-Petersburg–Pushkin, Podbelsky chausse, 3.
[2]*Saint-Petersburg State University,*
199034, Saint-Petersburg, Universitetskaya emb., 7-9.

Metagenome analysis of soil microbial community dynamics in the stress conditions was performed using the model of natural and artificial soil salinity. With the use of traditional bioinformatics approaches it was shown that salt stress caused changes in taxonomic structure of soil metagenome at the levels of phyla, families, genera and species (operational taxonomic units) of bacteria and archaea. Both natural and artificial salinity caused the increase in the proportion of Firmicutes and Bacteroidetes in the composition of bacterial community. In the phylum Actinobacteria – the dominant families of the non-saline soils Solirubrobacteriaceae and Rubrobacteriaceae in saline sites were replaced by Nocardioidaceae and Streptomycetaceae (in the case of artificial saline) and by the non-attributed families of Actinobacteria (in the case of normal saline). Traditional analysis revealed a number of methodological problems that make it difficult to use metagenomic data in ecological studies. To get out of this situation we proposed two methodological approaches. The first method involves the use of a linear regression model to rank taxonomic groups of bacteria according to their relation to stress (halophilic, halotolerant and non-halophilic microorganisms). This method can be

used to identify the indicators of the level of soil salinity. The second method is based on a mathematical model of the taxonomic space (TS), which allows to evaluate the depth and direction of the succession of the microbial community under stress conditions by computing the integral parameters of microbial community structure (center point) and dynamics (the displacement vector of the central point). TS allows to compare the taxonomic structure of microbial communities, which are exposed to the action of environmental factors that differ in their strength and nature. It is planned to use these approaches not only for agroecological monitoring, but also to predict soil fertility by the analysis of a large collection (approximately 400 samples) of soils collected from different regions of Russia.

This work was supported by RFBR grant 12-04-01371-a and the support program for basic research in priority areas of St. Petersburg State University.

НАДВИДОВЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ

Проворов Н.А., Тихонович И.А.
ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии,
С.-Петербург, Пушкин

Формирование биоценотических и симбиотических комплексов сопровождается генетической интеграцией разнородных организмов, приводящей к становлению надвидовых систем наследственности. Их разделяют на три типа: метагеном (совокупность наследственных факторов сообщества, занимающего определенную экологическую нишу), симбиогеном (функционально интегрированная система генов партнеров, определяющая фенотип симбиоза) и хологеном (структурно интегрированная система наследственности симбиогенно возникшего организма). Целостность метагенома определяется координированной регуляцией и горизонтальным переносом генов различных организмов, а в случае почвенных микробиоценозов – также и поддержанием стабильного пула внеклеточной ДНК. Становление симбиогенома связано с высокоспецифичными сигнальными взаимодействиями партнеров, определяющими формирование объединенных метаболических путей, а также особых клеточных и тканевых структур. Трансформация симбиогенома в хологеном основана на эндосимбиотическом переносе генов, который по своим молекулярным механизмам сходен с эволюцией геномов сингулярных организмов. У симбиотических бактерий эти переходы сопряжены со становлением многокомпонентного, редуцированного и рудиментарного типов генома, характерных для экологически облигатных симбионтов, генетически облигатных симбионтов и клеточных органелл, соответственно. При этом повышается строгость наследования симбионтов хозяином: от псевдо-вертикального (через окружающую среду) к транс-эмбриональному (через зародыши и окружающие их ткани), транс-овариальному и цитоплазматическому (через половые клетки). Для симбиозов норма реакции включает адаптивно значимые изменения наследственного материала, в том числе возникновение надвидовых генетических систем de novo в ответ на изменения внешних условий. Адаптивная эволюция симбиогеномов основана на групповом отборе в пользу внутри- и межвидового альтруизма, который лежит в основе функционирования многих надвидовых комплексов.

SUPER-SPECIES GENETIC SYSTEMS

Provorov N.A., Tikhonovich I.A.
All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology,
St.-Petersburg, Russia

Development and operation of biocenotic and symbiotic communities are accompanied by the genetic integration of diverse organisms resulted in formation of the super-species systems of heredity. They are classified into three types: metagenome (set of genetic factors in the community which occupies a certain ecological niche), symbiogenome (functionally integrated system of the partners' genes encoding for the phenotype of symbiotic system) and hologenome (structurally integrated hereditary system of a symbiotically derived organism). The integrity of metagenome is based on the cross-regulation and horizontal transfer of genes in co-evolving organisms which in the soil microbial communities is accompanied by maintenance of the stable extracellular DNA pool. Formation of symbiogenome is related to the highly specific signaling partners' interactions responsible for development of the joint metabolic pathways and of the specialized cellular and tissue structures. Transitions of symbiogenome into hologenome are based on the endosymbiotic gene transfer, which is similar to the evolution of organismic genomes in its molecular mechanisms. In symbiotic bacteria, these transitions are coupled to establishments of multi-component, reduced and rudimentary types of genomes typical for the ecologically obligatory symbionts, genetically obligatory symbionts and cellular organelles, respectively. Their evolution is related to the increased stringency for inheritance of symbionts by hosts: from pseudo-vertical (via environment) to the trans-embryonic (via the embryos and surrounding tissues), trans-ovarian and cytoplasmic (via the germ cells). For symbioses, the norm of reaction involve the adaptive modifications of hereditary material including the de novo formation of super-species genetic systems induced by the environmental changes. The adaptive evolution of symbiogenomes is based on the group selection operating in favor of the intra- and inter-species altruism which underlies the functioning of many super-species systems.

МОЗАИЧНОСТЬ ГЕНОМА АЛЬФА-ПРОТЕОБАКТЕРИЙ

Белова-Мунтян В.С., Симаров Б.В., Румянцева М.Л.
ГНУ ВНИИСХМ Россельхозакадемии,
196608 СПб-Пушкин, ш. Подбельского, д. 3

Геномы α-протеобактерий состоят из коровой и аксессорной структурных частей. Гены коровой части ответственны за метаболические процессы, определяющие жизнеспособность бактерий. Гены аксессорной части играют определяющую роль в адаптационных процессах микроорганизмов. Аксессорный геном представлен не только плазмидами, но и вкраплен в структуру корового генома участками различной протяженности. Это определило понятие «мозаичности» по отношению к геному. Размер генома предшественника α-протеобактерий, предсказанный *in silica*, составляет 3000-5000 генов. Размер геномов современных представителей α-протеобактерий варьирует от 1 до 9 млн.п.н. (геномы *Rickettsia spp.* и *Bradyrhizobium japonicum*, соответственно). Геном бактерий вида *Sinorhizobium meliloti* – модельного объекта класса α-протеобактерий, был выбран для анализа эволюции «предкового генома». Методы сравнительного геномного анализа с использованием биочипов, частичного и полного секвенирования геномов, мультисубстратного тестирования (Phenotype MicroArrays) и компьютерные базы данных (Rhizogate, OmniLog, Rast, Artemis, COG, KEGG) были использованы для скрининга пяти геномов *S.meliloti.* Был определен «экологический предковый геном» и показаны различия для групп штаммов, контрастно-различающихся по солеустойчивости. Высказана

гипотеза о различных путях адаптационной эволюции коровых геномов солеустойчивых и солечувствительных штаммов *S.meliloti*. Наиболее известными и протяженными частями аксессорного генома являются геномные острова, которые, согласно нашим исследованиям, существенно варьируют по своей внутренней структуре или отсутствуют в геномах многих природных штаммов *S.meliloti*. Выявлена корреляция между наличием хромосомных островов и морфолого-биохимическими свойствами ризобий. Исследования геномной организации имеют фундаментальное значение для понимания процессов адаптации штаммов к абиотическим стрессам и необходимы при конструировании биотехнологичных штаммов-инокулянтов, стабильно наследующих хозяйственно-ценные признаки.

GENOME STRUCTURE MOSAICS OF ALFA-PROTEOBACTERIA

Belova-Muntyan V.S., Simarov B.V., Roumiantseva M.L.
ARRIAM, RUSSIA, Saint-Petersburg-Pushkin,
Sh. Podbelskogo, h.3, 196608

Genome of α-proteobacteria is a composition of a core and accessory components. Basic metabolic processes that essential for bacteria viability is determined by core genes, while microbial adaptability is under responsibility of accessory genes. Accessory genome is represented by a large structural elements like plasmids, but also by different length sequences mosaically scattered into the core genome. Genome size of α-proteobacterial ancestor was predicted in silica and it's varied from 3000 to 5000 genes. More than 500 genes of α-proteobacterial ancestor are related to the LUCA genome (Last Universal Common Ancestor), and 2000 of genes are links to the genome of the ancestor of Archeae. Genome sizes of modern representatives of α-proteobacteria vary greatly from 1 Mb (Rickettsia spp.) to 9 Mb (Bradyrhizobium japonicum). The genome of root nodule bacteria Sinorhizobium meliloti – one of the model objects of α-proteobacteria was selected for «the ancestral genome» evolution study. The comparative genomic hybridization, shortgun and complete genome sequencing, Phenotype MicroArrays, and computer databases Rhizogate, OmniLog, Rast, Artemis, COG, KEGG were used for the screening of five S.meliloti genomes. The «environmental ancestral genome» with certain differences for genomes of strains differed in salt tolerance was predicted. The most well-known and extensive components of the accessory genome are so called "genomic islands" are varied significantly in structure of internal sequences among native rhizobia isolates, while some of them were free from "genomic islands" at all. A positive correlation between the presence of islands and cultural-biochemical properties of rhizobia was established. Genome structure study of soil bacteria S.meliloti symbiont of alfalfa has a tremendous meaning to the stress adaptation evaluation and for the construction of strains benefit for practical application.

РОЛЬ ЗНАНИЙ И СОВРЕМЕННЫХ СРЕДСТВ В ПОВЫШЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ АПК

Самуйленко А.Я.,
ГНУ ВНИТИБП Россельхозакадемии, Москва, Россия

В стратегии решения первоочередных проблем по обеспечению устойчивого развития страны на многие десятилетия проблема ветеринарного благополучия неразрывно связана с обеспечением населения качественными продуктами питания, и, в конечном счете, со здоровьем нации. Решение этой проблемы зависит от состояния и развития биотехнологии производства лекарственных средств для ветеринарной практики и животноводства. Прогресс в этой области

невозможен без новых знаний, освоения результатов фундаментальных исследований и приоритетных прикладных разработок, направленных на выявление закономерностей биологических процессов на уровне клеток микроорганизмов, на изучение механизмов поствакцинального иммунитета организма животных, на разработку нового технологического оборудования и оптимальных параметров технологических процессов.

Стратегическим ориентиром выполнения долгосрочных программ развития биотехнологии в России (БИО-2020) является достижение уровня 1% ВВП производства биотехнологической продукции. При этом ставится цель, чтобы эта продукция соответствовала мировым стандартам и была импортозамещающей. Одним из условий реализации поставленных задач является новая форма объединения – «биокластер». Это триединство науки-образования-практики, т.е. сотрудничество академических и отраслевых институтов, вузов и биологических производств. Большое значение придается международному сотрудничеству в рамках общих программ СНГ, евразийского пространства – ЕврАзЭС, Азиатско-тихоокеанского экономического сотрудничества (АТЭС).

Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности Россельхозакадемии по своему статусу решает научные и практические задачи федерального уровня по созданию отечественного биологического производства и биопрепаратов на уровне международных требований к качеству, экологической безопасности и эффективности; разрабатывает новые способы удаления, обезвреживания и биотехнологической переработки отходов производств на предприятиях АПК.

В институте постоянно усовершенствуются существующие и разрабатываются новые промышленные технологии производства биопрепаратов для ветеринарии и животноводства, новые вакцины, диагностические тест-системы, биологически активные лечебно-профилактические препараты и кормовые добавки. Были разработаны биотехнологические линии на основе современного оборудования и блочно-модульных конструкций, позволяющие производить быструю переналадку оборудования при переходе на новые технологии без значительных дополнительных затрат и решить проблему малотоннажного производства в местах потребления продукции в регионах страны. Полученные результаты позволили впервые разработать концепцию научного обеспечения развития и создания малых региональных биозаводов способных увеличить ассортимент и объем производства высокоэффективных препаратов для защиты животных, растений, восстановления почв и средств, обеспечивающих повышение эффективности функционирования АПК.

Для эффективного развития региональной биологической промышленности требуется разработать технико-экономические обоснования и проекты биозаводов, создать пилотное предприятие нацеленное на отработку промышленных регламентов производства биотехнологической продукции и малотоннажное производство, разработать интегрированную систему менеджмента качества на биофармпредприятиях агробиологической промышленности.

Наличие имеющегося потенциала биотехнологической науки при эффективной его государственной поддержке, разработка и проведение комплексных мероприятий по развитию биологической промышленности страны позволит решить проблему получения биологической продукции нового поколения.

ПРАКТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ БИОБЕЗОПАСНОСТИ ТРАНСГЕННЫХ КУЛЬТУР

Др. Николас Сторер,
ведущий специалист по международным научным связям в группе биотехнологии и правительственных связей в компании Dow AgroSciences, США, председатель группы по проектам оценки экологического риска (Environmental Risk Assessment Project Team, ERAPT) в CropLife International

Этот доклад ознакомит присутствующих с основными этапами оценки безопасности трансгенных культур для окружающей среды начиная с обозначения и формулировки проблем, постановки гипотезы эксперимента и анализа (риск = вред х продолжительность воздействия), до характеризации риска и уменьшение его воздействия на окружающую среду. Будут рассмотрены типы и источники информации использующиеся для каждого этапа оценки риска. Примеры трансгенных культур выращиваемых сегодня в мире проиллюстрируют подход.

APPROACHES TO ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT FOR CULTIVATION OF TRANSGENIC CROPS

Dr. Nicholas Storer,
Senior Specialist for International Relations in a group of biotechnology and government relations in the company Dow AgroSciences, USA, Chairman of the group on the project environmental risk assessment (Environmental Risk Assessment Project Team, ERAPT) at CropLife International

As with all agricultural practicesand tools, transgenic crops have the potential to benefit or harm the agricultural environment. Environmental risk assessment (ERA) provides an approach for understanding the potential for harm to the environment in the context of societal priorities for agriculture and goals for environmental protection. ERA is case-specific, being based on characteristics of the crop, the transgenic trait(s) (including any unintended effects), and the receiving environment. By integrating exposure (likely levels of the transgene product in the environment) with hazard(effects of the transgene product on key elements of the environment) to estimate risk, ERA objectively informs decision-makers when considering environmental release of a transgenic crop, including any post-release monitoring or risk mitigation measures indicated by the risk assessment. Globally, environmental risk assessments conducted by regulators have concluded that there are no unreasonable adverse effects of transgenic crops that have been approved for commercial release.

This talk will outline the framework for environmental risk assessment of transgenic crops in the context of modern agriculture and provide an overview of regulatory approaches.

РАСТЕНИЯ – ПРОДУЦЕНТЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ

Емельянов В.В., Савельева Н.В., Бурлаковский М.С., Гусева О.В., Ткаченко А.А., Лутова Л.А.
Кафедра генетики и биотехнологии, биологический факультет, Санкт-Петербургский государственный университет, Университетская наб., 7/9, Санкт-Петербург, 199034

Использование растений систем в качестве биореакторов приобретает все большее значение в современной биотехнологии. С помощью трансгенных растений получают множество

веществ, в том числе и используемых в фармацевтической промышленности. Преимуществом растительных систем являются биобезопасность продукта и меньшие затраты на его производство по сравнению с традиционными биопродуцентами – микроорганизмами и клеточными культурами. Одним из новых перспективных направлений в получении растений-продуцентов является создание пероральных, "съедобных вакцин и адъювантов" на основе рекомбинантных специфических антигенов и иммунорегуляторных цитокинов, которые планируется использовать в качестве биологических добавок в животноводстве. В лаборатории генной и клеточной инженерии растений СПбГУ проводятся исследования по получению растений-продуцентов гамма-интерферона млекопитающих и птиц. γ-интерферон является важным цитокином, обладающим антивирусной, антимикробной, противоопухолевой и иммуномодулирующей активностью, что обуславливает его широкое применение в медицине и ветеринарии. В настоящее время нами получены линии-продуценты трансгенного табака с постоянной экспрессией гена *IFNG*, кодирующего гамма-интерферон быка. Исследования показали стабильное наследование и экспрессию целевого гена в ряду 5 поколений. Интерферон, синтезированный растениями, стимулировал иммунный ответ у животных. Параллельно мы продолжаем создание "съедобных адъювантов" на основе культур моркови и гороха с орган-специфичной экспрессией укороченного гена γ-интерферона, продукт которого устойчив к протеолизу. Подобные трансгенные растения планируется использовать в качестве съедобных иммунотерапевтических кормовых добавок во время проведения ежегодных профилактических мероприятий совместно или вместо вакцинаций.

PLANTS – PRODUCERS OF PHARMACOLOGICAL PROTEINS

Yemelyanov V.V., Savelyeva N.V., Burlakovskiy M.S., Guseva O.V., Tkachenko A.A., Lutova L.A.
Department of genetics and biotechnology, faculty of biology,
Saint-Petersburg state university,
Universitetskaya emb., 7/9, Saint-Petersburg, 199034

Application of plant systems as bioreactors becomes more and more important in modern biotechnology. Use of transgenic plants allows obtaining of a number of substances, including proteins of pharmacological importance. Advantage of plant-based systems in comparison to conventional bioproducers – microorganisms and cell cultures is product biosafety and less production costs. One of perspective direction in making plant bioreactors is creation of edible plant-based vaccines and adjuvants with use of specific recombinant antigens and cytokines, which could be used as feed additive in animal farming. There are investigations for making plant-based bioreactors producing γ-interferon of mammals and birds in Laboratory of gene and cellular engineering at Saint-Petersburg state university. γ-interferon is an important cytokine, showing antiviral, antimicrobial, antitumor and immuno-modulating activity, resulting in its wide application in medicine and veterinary. We obtained transgenic lines of tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.), producing bovine γ-interferon. Our investigation revealed stable inheritance and expression of target gene in the line of 5 seed generations and immuno-stimulating activity of plant-synthesized interferon in laboratory animals. At the same time we continuing research to produce plant adjuvants based on carrot and pea with organ-specific expression of modified shorten *IFNG* gene, encoding more stable γ-interferon protein resistant to proteolysis. Transgenic plant-based adjuvants are supposed to be used as immuno-stimulating feed additive for prophylaxis and therapy of infection diseases as well as other immunodeficits of livestock for the aid to or instead of vaccination.

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ В СИМБИОТИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКЕ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ

Жуков В.А., Жернаков А.И., Титов В.С., Сулима А.С., Федорина Я.В., Штарк О.Ю., Борисов А.Ю., Тихонович И.А.
Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии РАСХН,
Россия, Санкт-Петербург – Пушкин, ш. Подбельского, 3. 196608

Развитие современных методов генетики, геномики и транскриптомики позволяет выявлять закономерности функционирования генетической системы бобовых растений, контролирующей взаимодействие с полезными почвенными микроорганизмами. Благодаря сходству структурной организации геномов различных бобовых растений результаты, полученные на модельных бобовых, могут быть «перенесены» на сельскохозяйственно-ценные бобовые культуры. В докладе будут освещены итоги и перспективы работы по изучению симбиотических генов гороха посевного с применением современных методов геномного секвенирования и сравнительной геномики.

Понимание генетических основ функционирования симбиотических систем, образуемых бобовыми растениями, является необходимой основой менеджмента «адаптивного» земледелия. Построение моделей функционирования генетической системы бобовых растений необходимо для ее дальнейшего направленного улучшения. Также, выявляемые ценные аллели симбиотических генов могут быть использованы при создании новых сортов бобовых, например, путем «маркер-ассоциированной селекции».

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки (Государственные контракты № 8109 и № 8056), грантов Президента РФ для поддержки ведущих научных школ (НШ-337.2012.4) и РФФИ (10-04-00961-а, 10-04-01146-а, 12-04-01867-а, 12-04-32126-мол-а).

MODERN METHODS IN SYMBIOTIC GENETICS OF LEGUME PLANTS

Zhukov V.A., Zhernakov A.I., Titov V.S., Sulima A.S., Fedorina J.V., Shtark O.Y., Borisov A.Y., Tikhonovich I.A.
All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology RAAS,
Russia, Saint-Petersburg – Pushkin, Podbelsky chaussee, 3. 196608.

The development of new methods of genetics, genomics and transcriptomics allows elucidating the pattern of functioning the genetic system of legume plants controlling interactions with beneficial soil microorganisms. Thanks to similarity of the structural organization of genomes of various legumes the results obtained on model legumes can be “translated” to crop legumes. The presentation will highlight the results and prospects of work on the study of symbiotic genes in pea with use of modern methods of genomic sequencing and comparative genomics.

Understanding the genetic basis of the functioning of the symbiotic system formed by leguminous plants is a necessary foundation for management of sustainable agriculture. Creation the models of functioning the genetic system of legume plants is a necessary prerequisite for its further improvement. Also, the valuable alleles of symbiotic genes may be used for creation the new varieties of legumes, for instance, by “marker-associated selection”.

The work was supported by grants of Ministry of Education and Science (State Contracts № 8109 and №8056), President of Russia for support the leading scientific schools (НШ-337.2012.4) and RFBR (10-04-00961-a, 10-04-01146-a, 12-04-01867-a, 12-04-32126-mol-a).

ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ ЦЕННОСТИ КОРМОВ, СОДЕРЖАЩИХ РАСТИТЕЛЬНЫЕ ИСТОЧНИКИ БЕЛКА

ООО Восток
Кировская обл., Омутнинский район

Рациональное использование биоресурсов, включая ежегодно возобновляемое белковое растительное сырье и отходы переработки сельскохозяйственных культур, позволит существенное сократить дефицит кормового белка и обеспечить животноводство и птицеводство полноценными сбалансированными по основным компонентам кормами. Повышение биологической и энергетической ценности растительных источников белка возможно достигнуть за счет использования ферментов, обеспечивающих расщепление растительных полимеров и других плохо усваиваемых нутриентов и способствующих более полному усвоению питательных веществ кормов. Однако сложный и разнообразный состав растительного сырья требует разработки комплексных ферментных препаратов для разных видов растительной массы, включающий ферменты, активно воздействующие на некрахмальные полисахариды (целлюлозу, гемицеллюлозы, пектиновые вещества) и их олигомеры.

Традиционные технологии ферментных препаратов основаны на культивировании микроорганизма-продуцента при контроле технологического процесса и стандартизации готового продукта по одному основному ферменту, синтезируемому продуцентом. В то же время микробные продуценты синтезируют помимо основного комплекс сопутствующих ферментов, который может меняться в зависимости от различных факторов (изменения качества сырья, воды, влияния сезонности и пр.). Таким образом, традиционные технологии не могут гарантировать стабильного получения разных партий препаратов с одинаковым комплексом ферментов и, соответственно, одинаковых результатов при использовании ферментного препарата в процессах переработки растительного сырья, т.к. сопутствующие ферменты в этих процессах играют не менее важную роль, чем те, по которым позиционируется ферментный препарат.

Ферментные препараты нового поколения конструируются на основе базовых концентратов отдельных ферментов с учетом состава растительного сырья и стандартизуются по активности трех-пяти ферментов. Препараты нового поколения отличаются сбалансированностью и стабильностью состава. В их состав помимо традиционных целлюлаз и гемицеллюлаз будут включены высокоактивные пектат- и пектин-лиазы, обладающие способностью мацерировать растительные ткани, т.е. расщеплять межклеточный протопектин, в результате чего повышается доступность целлюлозы и гемицеллюлоз клеточных стенок для действия соответствующих ферментов. Для устранения негативного действия неусвояемых олигосахаридов в композиционные препараты будут введены α-галактозидаза и маннаназа. Коммерческих препаратов, предназначенных для использования в кормопроизводстве и содержащих эти ферменты, на мировом рынке нет. Для повышения рентабельности производства и потребительских свойств ферментных препаратов разрабатываются приемы стабилизации и активации ферментов. Уникальность используемых модификаторов белков заключается в одновременной стабилизации, активации и расширении диапазонов температуры и pH активного катализа. Это позволит снизить себестоимость препаратов и повысить эффективность их использования. Например, оптимальные условия pH действия немодифицированных ферментов крайне разные: грибных целлюлаз 4,5-5,0; грибных эндо-полигалактуроназ 3,0-4,5; бактериальных пектин-лиаз 6,5-8,5, в то время как pH пищеварительного тракта животных составляет 5,0-6,5. Очевидно, что расширение диапазона активного катализа ферментов, используемых в кормопроизводстве, позволит повысить эффективность процесса переваривания кормов растительного происхождения.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА МЕЛАФЕН НА МИТОХОНДРИИ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХОЛОДА И ЗАСУХИ

Албантова А.А., Миль Е.М., Бинюков В.И., Жигачева И.В.
Учреждение Российской академии наук
Институт Биохимической физики им. Н.М.Эмануэля,
albantovaaa@mail.ru
119334 Москва, ул. Косыгина. д.4

В работе методом атомно-силой-микроскопии (АСМ) обнаружено статистически достоверное изменение формы митохондрий при воздействии холод-засуха, обнаруживается снижение эффекта при действии препарата мелафен в концентрации 2 х 10^{-12}М, восстановление способности к делению.

Было предположено, что при сочетанном воздействии умеренного охлаждения и недостаточного увлажнения в клетках проростков гороха может происходить увеличение генерации АФК (активных форм кислорода), приводящее к изменению морфологии митохондрий. В эксперименте была изучена интенсивность флуоресценции продуктов перекисного окисления липидов мембран митохондрий. При воздействии холод- засуха наблюдалась активация ПОЛ. При этом интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ возрастала. Замачивание семян в растворе $2x10^{-12}$М мелафена приводила к снижению содержания продуктов ПОЛ в мембранах митохондрий: интенсивность флуоресценции продуктов ПОЛ снижалась почти до контрольного уровня. В настоящее время показано, что АТФ играет не только субстратную роль, (поставляя энергию) но и в очень малых концентрациях выполняет сигнальную функцию, усиливая передачу сигналов через рецепторы АТФ на внешней мембране клеток, в частности, сигналов к росту и делению.

Возможно, что мелафен относится к тем специфическим химическим факторам, который способен в сверхнизких концентрациях регулировать рост растительной клетки.

Можно предположить, что мелафен действует подобно АТФ при контакте с внешней мембраной растительных клеток и вызывает усиление роста и деления. Закрытие митохондриального К-АТФ зависимого канала предотвращает неконтролируемое набухание митохондрий. На сегодняшний день митохондриальный К-АТФ-зависимый канал был найден во внутренней мембране митохондрий в нескольких лабораториях. Поскольку мелафен в сверхмалых количествах предотвращает набухание митохондрий, можно предположить, что одним из мест воздействия мелафена может быть пуринорецептор на митохондриях, и тогда становится понятным, почему он действует в столь низких концентрациях.

THE PROTECTIVE EFFECT OF MELAPHEN ON MITOCHONDRIA PEA SEEDLING DURING EXPOSURE TO COLD AND DROUGHT

Albantova A.A., Mil E.M., Binjukov V.I., Zhigacheva. I.V.

By atomic force microscopy (AFM) revealed a statistically significant change in the shape of mitochondria when exposed to cold-drought and detected reducing the effect by the action of the drug melaphen at concentrations of $2x10^{-12}$M and revealed the ability to divide. It was suggested that the combined effects of moderate cooling and insufficient moisture in the cells of pea seedlings can increase the generation of active forms of oxygen, leading to changes in the morphology of mitochondria.

Under the action of cold-drought observed activation of lipid peroxidation. The intensity of the fluorescence of lipid peroxidation products increased. Soaking the seeds in a 2 x 10^{-12}M solution melaphen decreased the content of lipid peroxidation products in the membranes of mitochondria: fluorescence intensity of lipid peroxidation products was reduced almost to the control level. Now has shown that ATP plays a role not only as substrate, (supplying energy) but in very small concentrations performs a signaling function, increasing signaling through ATP receptors on the outer membrane of cells, in particular, the signal for growth and division.

Melaphen refers to those specific chemical factors that are able to regulate the growth of very low concentrations in plant cells. We can assume that melaphen acts like ATP in contact with the outer membrane of plant cells and causes increased growth and division. Closing the mitochondrial K-ATP channel prevents uncontrolled swelling of mitochondria. To date, the mitochondrial K-ATP channel was found in the inner membrane of mitochondria in several laboratories.

Melaphen in ultrasmall quantities prevents swelling of mitochondria, we can assume that one of the places the impact melaphen can be purinoretseptor on mitochondria, and then it becomes clear why he acts in such low concentrations.

СВОЙСТВА САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ СЕМЕЙСТВА MIR396 С MRNA СЕМЕЙСТВ ГЕНОВ РОСТ РЕГУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РАСТЕНИЙ

Бари А.А., Оразова С.Б., Иващенко А.Т.
Институт проблем биологии и биотехнологии,
КазНУ им.аль-Фараби,
пр.аль-Фараби, 71, Алматы 050038, Казахстан

MiRNA регулируют экспрессию белок-кодирующих генов растений связываясь с их mRNA. Особый интерес представляют miRNA, непосредственно регулирующие экспрессию генов, участвующих в росте и развитии растений. Нами изучены свойства сайтов связывания miR396 в белок-кодирующей области mRNA рост регулирующих факторов (GRF) *A.thaliana*, *Z.mays* и других растений. Степень связывания miRNA с mRNA оценивали по отношению (ΔG/ΔGm) их энергии связывания (ΔG) к максимальной величине энергии (ΔGm) при полностью комплементарных нуклеотидах в сайте связывания. В каждом из изученных видов растений присутствуют девять и более паралогичных генов GRF, экспрессия которых в разной степени регулируется действием miRNA семейства miR396. Из девяти паралогичных генов GRF арабидопсиса mRNA семи генов связывали ath-miR396a,b с величиной ΔG/ΔGm равной 84.9-88.1%. mRNA GRF5 и GRF6 не имели сайтов связывания с ath-miR396a,b. Все 14 паралогичных генов GRF кукурузы связывали zma-miR396a-h с величиной ΔG/ΔGm равной 80.2-90.2%. Два гена с неустановленной функцией имели сайты связывания zma-miR396a-h, идентичные сайтам в mRNA GRF. Степень связывания miRNA семейств miR396 с mRNA паралогичных GRF в других видах растений была высокой и величина ΔG/ΔGm варьировала от 75.9% до 100%. Олигонуклеотиды в сайтах связывания в mRNA GRF *A.lyrata, B.distachyon, G.max, M.truncatula, O.sativa, P.patens, P.trichocarpa, R.communis, S.moellendorffii, S.bicolor* и *V.vinifera* были высоко гомологичны. В mRNA большинства GRF эти сайты кодировали гептапептид RSRKPVE и RSRKHVE. Эти гептапептиды были высоко консервативны в изученных видах растений, причем аминокислоты впереди их и особенно после были вариабельны. Эта консервативность сайтов связывания miR396 в mRNA GRF изученных видов растений свидетельствует о раннем возникновении системы регуляции экспрессии генов с помощью miRNA и высокой ее помехоустойчивости.

PROPERTIES OF MIR396 BINDING SITES IN MRNA OF GROWTH REGULATORY GENES FAMILY IN PLANTS

Bari A.A., Orazova S.B., Ivashchenko A.T.
Institute of Biology and Biotechnology Problems,
al-Farabi Kazakh National University,
71 al-Farabi Ave., Almaty 050038, Kazakhstan

miRNAs regulate the expression of plant protein-coding genes by binding to their mRNAs. Of particular interest are miRNAs that directly regulate the expression of genes involved in growth and development of plants. We have investigated the properties of miR396 binding sites in the protein-coding region of the mRNA of growth-regulating factors (GRFs) in *A.thaliana, Z.mays* and other plants. The degree of miRNA binding to mRNA was evaluated in relation (ΔG/ΔGm) of their binding energies (ΔG) to the maximum energy (ΔGm) in case of fully complementary nucleotides in the binding site. All studied species had nine and more GRF paralogs which expression is regulated in a different degree by miR396 family. Out of nine GRF paralogs of arabidopsis mRNA of seven genes bound ath-miR396a,b with the value of ΔG/ΔGm is equal to 84.9-88.1%. mRNAs of GRF5 and GRF6 had no binding sites for ath-miR396a,b. All 14 GRF paralogs of maize bound zma-miR396a-h with the value of ΔG/ΔGm of 80.2-90.2%. Two genes with unknown function had zma-miR396a-h binding sites that were identical to sites in mRNA of GRFs. The binding degree of miR396 family to mRNA of GRF paralogs in other plant species was strong and the ΔG/ΔGm value varied from 75.9 to 100%. Oligonucleotides of binding sites in mRNA of GRFs in *A.lyrata, B.distachyon, G.max, M.truncatula, O.sativa, P.patens, P.trichocarpa, R.communis, S.moellendorffii, S.bicolor* and *V.vinifera* were highly homologous. In mRNAs of GRF majority these sites coded RSRKPVE and RSRKHVE heptapeptides. These heptapeptides were highly conservative in the studied plant species, and the amino acids in front and especially after them were variable. These conservative miR396 binding sites in mRNA of GRFs in different species suggest an early occurrence of gene expression regulation by miRNAs and its high noise immunity.

РОЛЬ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В АГРОТЕХНОЛОГИЯХ АСТРАХАНСКОГО РЕГИОНА

Батаева Ю.В.
ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный университет»,
414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 20а

Почвенные цианобактерии в отличие от других водорослей фиксируют из атмосферы молекулярный азот, продуцируют биологически активные вещества и образуют первичную продукцию органического вещества. Такие свойства цианобактерий оказывают благоприятное воздействие на структуру и плодородие почвы, а также на рост и развитие растений. Это создает предпосылки для использования цианобактерий в качестве удобрений для культурных растений.

В связи с особенностями расположения и аридным климатом Астраханского региона, на его территории развиваются специфические циано-бактериальные сообщества, обладающие устойчивостью к высоким температурам, повышенной солености, интенсивности света, высушиванию, ультрафиолетовому облучению и т.д.

С помощью метода накопительных культур на основе отобранных на территории Астраханского региона почвенных образцов, выделены циано-бактериальные сообщества. Доминирующей формой структурообразователей изучаемых сообществ явились цианобактерии родов *Phormidium, Anabaena, Nostoc, Oscillatoria*. В лабораторных и вегетационных опытах проведены исследования по влиянию выделенных сообществ на рост растений. Значительную

ростстимулирующую активность проявляли 6 из 25 тестируемых сообществ цианобактерий по отношению к семянам кресс-салата (семейство крестоцветные), томатов, перца, картофеля (семейство пасленовые) и пырея бескорневищного (семейство злаковые). Также получены положительные результаты по подавлению цианобактериями роста фитопатогенных грибов родов *Fusarium* и *Alternaria*.

В результате проведенных экспериментов отобрано несколько сообществ цианобактерий, обладающих наиболее активными ростстимулирующими и фунгицидными свойствами, которые можно использовать для дальнейших разработок в агробиотехнологиях.

ROLE OF CYANOBACTERIA IN AGROTECHNOLOGY OF THE ASTRAKHAN REGION

Bataeva Y.V.
FSBEI HPE «Astrakhan State University»,
414056, Astrakhan, 20a, Tatischeva Street

Soil cyanobacteria in contrast to other algae, are fixing molecular of nitrogen from the atmosphere, produce a biologically active substance and generate the primary production of organic material. Such characters of cyanobacteria have a beneficial effect on soil structure and fertility, as well as the growth and development of plants. This is a prerequisite for the use of cyanobacteria as a fertilizer for cultivated plants.

Due to the specific nature location and arid climate of the Astrakhan region in its territory are developing specific cyano-bacterial communities having resistance to high temperatures, high salinity, light intensity, drying, ultraviolet light, etc.

Using the method of enrichment cultures based on the soil samples that were collected in the Astrakhan region were selected cyano-bacterial community. The dominant form of structure-studied communities were cyanobacteria of types *Phormidium, Anabaena*, *Nostoc, Oscillatoria*. In laboratory and greenhouse experiments conducted research on the impact of the selected communities on plant growth. Growth promoting activity showed 6 out of 25 tested cyanobacterial communities in relation to Semianov watercress salad (Cruciferae), tomatoes, peppers, potatoes (Solanaceae) and slender wheatgrass (Gramineae). Also were received a positive results in suppressing the growth of pathogenic fungi cyanobacteria of types *Fusarium* and *Alternaria*.

During the experiments were selected few communities of cyanobacteria, with the growth promoting and fungicidal properties that can be used for further developments in agricultural biotechnology.

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ГЕНА *NHX1 SALICORNIAEUROPEA*

Богомаз Д.И., Кудрявцев Г.К., Матвеева Т.В., Лутова Л.А.
Санкт-Петербургский государственный университет,
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

Проблему использования засоленных территорий можно решать, в том числе, путем создания новых сортов растений, устойчивых к засолению. Их примером могут быть трансгенные растения с геном *NHX1*, кодирующим вакуолярныйNa+/H+ антипортер.До сих пор не ясны различия между механизмами солеустойчивости гликофитов и галофитов, приводящие к драматической разнице в адаптационных возможностях. Достоверно известно то, что солончаковые галофиты накапливают значительно большие количества соли в своих вакуолях. Этот механизм реализуется с помощью семейства белков вакуолярныхNa+/H+ антипортеров (Na+/H+ exchang-

er, NHX) Поскольку трансгенные растения, полученные при трансформации конструкциями наосновакДНК гена *NHX1* разного происхождения, проявляют сходныйне очень высокий уровень солеустойчивости, актуальным видится выяснение полной последовательности данного гена, его интрон-экзонной структуры.В рамках изучения механизмов обеспечения высокойсолеустойчивости растений нами впервые определена последовательность гена *NHX1*, кодирующего вакуолярныйNa+/H+ антипортер у природного галофита Salicorniaeuropea.Секвенирование показало, что ген NHX1 из солероса европейского оказался наиболее протяженным из всех отсеквенированных на сегодняшний день. В гене NHX1 солероса выявлено 15 экзонов, включая правую и левую нетранслируемую области. В интронах 8 и 14 обнаружены последовательности сходные с регуляторными последовательностями генов *BVA, SOS1*и др., экспрессирующихся при засолении, что может быть интерпретировано с точки зрения регуляторных функций данных интронов.

Работа выполнена с использованием оборудования ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий»

INVESTIGATION OF STRUCTURE OF *NHX1* GENE OF *SALICORNIAEUROPEA*

Bogomaz D.I., Kudryavtsev G.K., Matveeva T.V., Lutova L.A.
St.PetersburgStateUniversity, 199034, St.Petersburg, Universitetskayaemb, 7/9

Issue of the use of saline areas can be addressed, including through the creation of new varieties of plants that are resistant to salinity. For example, they could be transgenic plants with the gene *NHX1*, encoding vacuolar Na + / H + antiporter. So far, no clear distinction between the mechanisms of salt tolerance glycophytes and halophytes, resulting in a dramatic difference in the adaptive capacity. It is known, that saline halophytes accumulate significantly greater amounts of salt in their vacuoles. This mechanism is implemented in part by family of proteins of vacuolar Na + / H + antiporter (Na + / H + exchanger, NHX) Since the transgenic plants obtained by the transformation with constructions containing*NHX1*basedoncDNAof different origin, showing a similar level of salt tolerance, it is important to determine the complete sequence of the gene, its intron-exon structure. As part of the study of mechanisms of high salt tolerance we first determined the sequence of the gene *NHX1*, encoding the vacuolar Na + / H + antiporter in natural halophyte *Salicorniaeuropea*. Sequencing revealed that the gene *NHX1* of *Salicorniaeuropea* was the most extensive of all homologs sequenced today. In gene *NHX1*of *Salicornia*we revealed 15 exons, including the right and left untranslated region. In intron 8 and 14 we revealed sequences similar to the regulatory sequences of genes *BVA, SOS1*, and others which are expressed in saline and can be interpreted in terms of the regulatory functions of these introns.

This work was partiallycarried outin theresource center forSt. Petersburg State University “The development of molecular andcellular technologies”

ВВЕДЕНИЕ ДИКОРАСТУЩЕГО КАУЧУКОНОСНОГО РАСТЕНИЯ ТАУ-САГЫЗ (*SCORZONERA TAU-SAGHYZ LIPSCH. ET BOSSE*) В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*

Богуспаев К.К., Турашева С.К., Фалеев Д.Г., Амангуль, Аксамбаева А.С.
КазНУ им. аль-Фараби, ДГПНИИ проблем экологии,
050040, Казахстан, Алматы, пр.Аль-Фараби,
71, ГУК-6, факультет биологии и биотехнологии

Каратауский хребет является местом обитания ценнейшего каучуконосного растения – козлеца тау-сагыз (Scorzonera tau-saghyz , Lipsch. et Bosse). Запасы вида сильно сократились в военные годы, когда было выкопано более 14 млн. растений. Ограниченность посадочного материала, практическое отсутствие в Казахстане питомников по их производству делают актуальной задачу разработки и совершенствования технологии массового тиражирования ценной культуры. Возникает необходимость в разработке альтернативной технологии ускоренного размножения, имеющей значительный потенциал для коммерциализации, например, технологии клонального микроразмножения. Данная технология будет способствовать восстановлению численности тау-сагыза в природе, позволит относительно быстро получить необходимое количество материала для научно-исследовательских и селекционных работ с целью создания новых сортов с повышенным содержанием натурального каучука. Известно, что первоначальные попытки введения дикого вида в культуру не увенчались успехом. Результаты наших исследований показывают, что эксперименты по введению растений тау-сагыза в культуру *in vitro* наиболее оптимально проводить в период активной вегетации растений (май-июнь). В качестве эксплантов для культивирования *in vitro* целесообразно использовать листовые сегменты, взятые с активно вегетирующих 1-2 летних побегов, а также корневые сегменты растений. Для индукции каллусообразования культивируемые экспланты необходимо содержать в темноте при температуре 24-27оС, при этом еженедельно проводить скрининг по морфо-физиологическим параметрам (морфологические изменения культивируемых эксплантов, рост, увеличение объема или прирост биомассы и т.д.). Субкультивирование эксплантов проводится через каждые 20-25 дней на теже варианты питательных сред. Минеральный состав среды Мурасиге-Скуга является наиболее оптимальным для культивирования эксплантов тау-сагыза.

INTRODUCTION OF WILD RUBBER PLANTS TAU SAGHYZ (SCORZONERA TAU-SAGHYZ LIPSCH. ET BOSSE) *IN VITRO* CULTURE

Boguspaev K.K., Turasheva S.K., Faleev D.G., Amangul, Aksambayeva A.S.
Al-Farabi Kazakh National University, DSO Institute of ecology problems,
050040, Kazakhstan, Almaty, Al-Farabi 71,
Faculty of Biology and Biotechnology

Karatau mountain range is areal of the most valuable rubber plant – tau saghyz (Scorzonera tau-saghyz, Lipsch. Et Bosse). Resource of species greatly reduced during the war years, when it was excavated more than 14 million plants. The limit of planting material, deficiency farm to produce them in Kazakhstan create the actual task of developing and improving the technology of mass reproduction of these valuable plants. There is a need to develop alternative technology of accelerated reproduction, which has significant potential for commercialization, such as technology of clonal micropropagation. This technology is allowing to reestablish the number of tau sagyz in nature, will relatively quickly obtain the necessary amount of plant material for research and breeding to create a new varieties with a high content of natural rubber. It is known that the initial attempts of introduction a wild species in culture were unsuccessful.

Our results show that the experiments on the introduction of tau sagyz plants *in vitro* culture optimal to carry out during the active growing season (May-June). As explants for *in vitro* culture appropriate to use leaf segments witch taken from 1-2 years active vegetative shoots and root segments of plants. For the induction of callus formation explants were cultivated in the dark and should be kept at a temperature 24-27o C, it's necessary weekly to do screening of morphological and physiological parameters (morphological changes of cultured explants, growth, increase or increase in biomass, etc.). The subcultivation of explants carried out every 20-25 days in those variations of media. The mineral composition of medium Murashige-Skoog is the best for cultivation explants of tau sagyz.

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗМНОЖЕНИЮ ЭВКАЛИПТА

Бредун Н.А.[1]**, Харута Л.Г.**[2]
[1]*Сочинский государственный университет,*
354350, Сочи, ул. Советская, 26-а.
[2]*Сочинский институт (филиал) ФГБУ «Российский университет дружбы народов»,*
354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32.

На протяжении длительного времени в район Сочи завозились многие виды эвкалипта, часть из них по разным причинам погибла, часть оказалась гибридами, и в настоящее время здесь произрастают около 20 видов, из которых 8 представляют интерес для целей зеленого строительства (Карпун, 2003). Эвкалипт является ценным растением. Не только в качестве важного компонента зеленой зоны Сочи, но и как фитонцидного растения и источника лекарственных субстанций. В роде около 600 видов, распространенных в Австралии и некоторых близлежащих островах. Главным способом размножения эвкалипта считается семенной. Однако семенное размножение не всегда способствует сохранению исходного генотипа. Уже имеется достаточно большое количество экспериментальных работ, направленных на выращивание эвкалипта в культуре *in vitro* для осуществления процедуры микроклонального размножения и получения новых форм. Весьма полезно это растение как источник целлюлозы благодаря быстрому росту. В настоящее время в ряде стран проводится расширение площадей выращивания эвкалипта. Так в течение 15 лет, предшествующих 2005 году в Чили было занято около 436 706 га, что составляет приблизительно 21,3% территории. Пришлось использовать и неудобные для этой культуры территории (засушливость, низкие температуры, низкое плодородие почв). Для решения задачи обеспечения посадочным материалом, в т.ч. и устойчивым к неблагоприятным условиям среды, было использовано преимущество методов биотехнологии.

В нашем городе также имеются факторы, оказывающие неблагоприятное влияние на рост и развитие эвкалипта. Так в определенные периоды (60-е годы 20 века) наблюдали массовое вымерзание этой культуры. Мы исследовали различные способы размножения эвкалипта. При семенном размножении выявлено наличие, по меньшей мере, двух форм: с зелеными первичными листьями и желто-оранжевыми. При последующем выращивании эта разница сглаживается, однако необходимы более глубокие исследования по выявлению генетических различий у сеянцев. Проведены также исследования по выращиванию эвкалипта в культуре *in vitro*.

ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННЫХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ НА РАСТЕНИЯ, КОЛОНИЗИРОВАННЫЕ ПОЧВЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Пиголева С.В.[1], Федорова Н.[2], Чепурнова М.А.[2], Тарасова П.В.[2], Захарченко Н.С.[1]
[1]*Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, 142290*
[2]*ФГБОУ ВПО Тульский государственный университет, 300012*

Одним из направлений современной агробиотехнологии является изучение симбиозов растений с бактериями, в том числе их ответной реакции на действие стрессоров различной природы.

Целью нашей работы было изучение влияния антропогенных стрессовых факторов на растения, колонизированные почвенными микроорганизмами.

Объектом исследования были выбраны растения томата (*Solánum lycopérsicum)* сорта Джина и табака *(Nicotiana tabacum)* сорта Самсунг. Для колонизации растений использовали штаммы бактерий: *Methylovorus mays* ВКМ В-2221 (Доронина и др., 2000) и *Pseudomonas aureofaciens* BS 1393 (Боронин, Кочетков, 2003), *P. putida* BS3701, *Acinetobacter baumannii* 7 и *Rhodococcus erythropolis* S67. Получены результаты, подтверждающие стабильность ассоциативной связи между растениями и бактериями в культуре *in vitro*. Так количество бактерий на корнях растений варьировало от $3{,}2\times10^3$ (у метилобактерий) до $6{,}2\times10^7$ (у псевдомонад) КОЕ/г сыр. веса.

В качестве стрессора были выбраны нафталин (3-15 мг/мл) и гербицид паракват (5 мкМ). Продолжительность стресса составила 20 часов. Были определены активности ферментов антиоксидантной защитной системы растений (супероксиддисмутазы, каталазы), уровень перекиси водорода и перекисного окисления липидов. Результаты исследования показали, что колонизированные растения обладают большей устойчивостью к окислительному стрессу. Активность ферментов-антиоксидантов у колонизированных растений была выше, чем в клетках контрольных растений. Уровень ПОЛ под действием стрессоров у колонизированных растений практически не изменялся, в то время как у контрольных растений повысился более чем в 1,5 раза, что говорит о значительном повреждении мембран контрольных растений.

INFLUENCE OF ANTHROPOGENIC STRESSORS ON PLANTS COLONIZED BY SOIL MICROORGANISMS

Pigoleva S.V.[1], Fedorova N.[2], Chepurnova M.A.[2], Tarasova P.V.[2], Zakcharchenko N.S.[1]
[1]*Branch of Shemyakin & Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry Russian Academy of Sciences, 142290*
[2]*Tula State University, 300012*

One of the trends of modern agricultural biotechnology is the study of plant symbioses with bacteria, including their response to different stressors act of nature.

The aim of our study was to investigate the influence of anthropogenic stressors on plants colonized by soil microorganisms.

The research was selected tomato plants (*Solánum lycopérsicum*) and varieties of tobacco (*Nicotiana tabacum*). For colonization of plants used strains of bacteria: *Methylovorus mays* VKM B-2221 (Doronin et al, 2000), *Pseudomonas aureofaciens* BS 1393 (Boronin, Kochetkov, 2003), *P. putida* BS3701, *Acinetobacter baumannii* 7 and *Rhodococcus erythropolis* S67. The results confirming the stability of association between plants and bacteria in culture *in vitro*. Since the number of bacteria on the roots of plants varied from $3{,}2 \times 10^3$ (a metilobaktery) to $6{,}2 \times 10^7$ (a pseudomonad).

As a stressor were selected naphthalene (3-15 mg / ml) and the herbicide paraquat (5 mM). Prolonged stress is 20 hours. Identified activity of antioxidant defense system of plants (superoxide dismutase, catalase), the level of hydrogen peroxide and lipid peroxidation. The results showed that the colonized plants are more resistant to oxidative stress. Activity of antioxidant enzymes in the colonized plants was higher than in the cells of the control plants. The level of the floor under the influence of stressors in plants colonized practically unchanged, while the control plants increased by more than 1.5, indicating that significant damage to the membranes of control plants.

МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ВАЖНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО И ОРНАМЕНТАЛЬНОГО РОЗЕТОЧНОГО РАСТЕНИЯ YUCCA ALOEFOLIA

Чакрян Г.Г., Рыбалко АЕ.
Сочинский государственный университет,
354350, г. Сочи, ул. Советская, 26-а.

Представители рода Yucca являются важными компонентами зеленой зоны г. Сочи. В городе произрастает 6 видов этого растения. Метелки с крупными белыми цветами в августе – октябре украшают улицы города. В роде около 30 видов, распространенных, преимущественно, в Центральной Америке и прилегающих регионах. В условиях культуры на Северном Кавказе отмечаются 16 видов, из которых 7 видов интересны для зеленого строительства. Однако большинство видов не завязывают семян по причине отсутствия опылителя, или специфических климатических условий. Единственным видом, иногда дающим семена, является Юкка алоелистная *(Yucca aloifolia L.)* Цветет в конце лета округло-колокольчатыми, белыми цветками в больших, разветвленных соцветиях. Изредка завязываются плоды – крупные, сочные, бананоподобные коробочки зеленоватого цвета со многими черными семенами. Экстракт юкки полезен при постоянном употреблении в качестве пищевой добавки при диабете, высоком уровне холестерина и высоком давление крови. В косметическом применении Юкки Шидигеры экстракт и порошок может быть использован для подготовки натуральных шампуней и косметики или жидкого мыла.

В конце лета 2012 года нами выявлено 2 растения в Адлерском районе с крупными коробочками. Эти коробочки также имеют весьма декоративный вид, что может продлить декоративность растений еще на 2 – 3 мес. Мы обозначили эти растения как №1 и №2. 22.11.2012 были собраны эти коробочки. Как оказалось, на этих растения сформировалось 98 и 37 коробочек. При подсчетах количества семян оказалось, что у растения №1 число семян на коробочку составило 123,9±12 шт., а у №2 - 82±7 шт. Elshafei A.A., Esmaiel N.M., Al-Doss A.A., Barakat M.N.An assessment of the cultural capabilities of clonal propagation and molecular characterization of **Yucca elephantipes** cultivars. Journal of Medicinal Plants Research, Vol. 5(13), pp. 2896-2905, 2011.

Karpov P. Clonal propagation of Yucca aloifolia L. Acta Universitatis Latviensis, Biology, 2004, Vol. 676, pp. 177-182.

ИЗУЧЕНИЕ УСЛОВИЙ ПОЛУЧЕНИЯ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР ТРЕХ ВИДОВ МУСКАРИ

Рыбалко А.А.
Сочинский институт (филиал) ФГБУ «Российский университет дружбы народов»,
354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32.

Muscari является важным орнаментальным и лекарственным растением. Род *Muscari*, подсемейства *Hyacinthoideae Link.*, семейства *Hyacinthaceae Batsch* (1) включает 50 видов.

В Сочинском Причерноморье призрастают 4 вида этого растения: *M. coruleum Losinsk., M. dolichanthum Woronow et Tron, M. neglectum Guss., M. pallens M. Bieb.* (2). Первые 2 из них являются исчезающими, необходим контроль за состоянием популяций, разработка специальных мер охраны и разведения, организация микрозаказников (3). В литературе имеется ряд сообщений о введение некоторых видов этого растения в культуру *in vitro*. В частности, проведены исследования с *M. neglectum* Guss., который используется, в лекарственных целях (4). Соматичекий эмбриогенез этого вида был вызван от эксплантов луковицы, культивируемых на Murashige и Skoog (MS) среде, без фиторегуляторов или с добавкой нафтилуксусной кислоты (НУК) и бензиладенина (БА) в различных концентрациях. Лучшие результаты были получены на регуляторе роста завода свободная среда или с ниже NAA и концентрациями BA и 30 г/л сахарозы. Соматическое развитие эмбриона наблюдалось в 1/2 среды MS свободного от фиторегуляторов, под непрерывным освещением флуоресцентным светом. В наших исследованиях соматический эмбриогенез и растеньица были вызваны на среде МС после 2 месяцев культивирования. А после 3 месяцев образовался каллус. В настоящее время в культуре *in vitro* имеются каллусы *M. coruleum Losinsk. и M. neglectum Guss*.

1. Speta, F. (1998) Hyacinthaceae. In: Kubitzki, K. (Ed.), The Families and Genera of Vascular Plants, vol. 3. Springer, Berlin, Heidelberg.

2. Солодько А.С., Нагалевский М.В., Кирий П.В.Атлас флоры Сочин-ского Причерноморья. Дикорастущие сосудистые растения. Сочи, 2006, 287 с.

3. Солодько А.С., Кирий П.В.«Красная книга Сочи. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды». Том 1. Растения и грибы. Русское географическое общество. Сочи, 2002. 144 с.

4. Roya Karamian, Atiyeh Sharifzadeh and Massoud Ranjbar. Evidence of somatic embryogenesis for plantlet regeneration in Muscari neglectum Guss. African Journal of Agricultural Research. 2011. Vol. 6(14), pp.3247-3251.

ФРАГМЕНТЫ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ РАСТЕНИЙ В ГЕНОМАХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Елькина М.А., Глазко В,И.

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Россия, Москва, 127550, Тимирязевская улица, 49

Диспергированные повторы – самая многочисленная группа последовательностей в геноме млекопитающих (40 до 50% всей длины ДНК). Благодаря значительной их представленности и способности к перемещению по геному мобильные элементы удобно использовать в качестве маркеров для задач полилокусного генотипирования. В данном исследовании был оценен полиморфизм фрагментов, полученных с применением в качестве праймеров в ПЦР фрагментов ретротранспозонов (LTR SIRE-1, Paws 5 и BARE-1, изначально использовавшиеся для типирования сортов сои, пшениц и ячменя, соответственно). Наиболее значимые отличия в генетической структуре каждого из исследованных видов животных (крупный рогатый скот, овцы и лошади), выявляет участок ретротранпозона LTR SIRE-1. Наибольший полиморфизм внутри вида наблюдается с применением в качестве праймеров фрагментов ретротрнспозонов PawS 5 и BARE-1, при этом ретротранспозон BARE-1 формирует свой специфичный спектр полиморфных фрагментов разной длины (2880 - 730 п.о., овцы, КРС – 1430-330 п.о.) у лошадей, что не характерно ни для одного из других ретротранспозонов. С использованием алгоритмов BLASTn была выявлена высокая гомология участков мобильных элементов растений к секвенированным последовательностям (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) не только различных видов растений, но также бактерий, рыб, насекомых и млекопитающих. Таким образом, участки

растительных ретротранспозонов также могут успешно применяться для полилокусного генотипирования в исследованиях генофондов сельскохозяйственных животных.

FRAGMENTS OF PLANT MOBILE ELEMENTS IN THE GENOMES OF FARM ANIMALS

Elkina M.A., Glazko V.I.
Russian State Agrarian University – MTAA, named after K.A.Timiryazev,
Moscow, 127550, Timiryazevsky street, 49

Dispersed repeats are one of the largest groups of sequences in the mammalian genome (40 to 50% of the length of total DNA). Transposable elements can be successfully used as molecular markers for multi-locus genotyping because of their considerable representation and the ability to move through the genome. Polymorphism of fragments obtained by using sites of retrotransposons as primers in PCR (LTR SIRE-1, Paws 5 and BARE-1, firstly used for typing soybean, wheat, and barley, respectively) was evaluated at this study. The most significant differences in the genetic structure of each of the studied species (cattle, sheep and horses) reveals a site of retrotransposon LTR SIRE-1. The highest polymorphism within the species was observed by PawS 5 and BARE-1 as primers, a site of retrotransposon BARE-1 forms a range of specific polymorphic fragments of different lengths (2880 - 730 bp, sheep, and cattle – 1430-330 bp) in horses, which was not typical for any of the other retrotransposons. A high number of homologous regions of plant transposable elements have been revealed in the sequences of GenBank database (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Such sequences were represented not only in the genomes of plants, but also in the genomes of bacteria, fish, insects and mammals. Thus, the sites of plant retrotransposons can be also successfully used as molecular markers for multi-locus genotyping in studies of gene pools of farm animals.

РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕССНЫХ МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКИХ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ПАТОГЕНОВ КАРТОФЕЛЯ

Емельянова Г.К.[1,2], Сафенкова И.В.[1], Варицев Ю.А.[3], Жердев А.В.[1], Венгеров Ю.Ю.[1], Дзантиев Б.Б.[1]
[1]*Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН;*
119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33;
[2]*Российский государственный аграрный университет – МСХА им.*
К.А. Тимирязева, 127550, Москва, Тимирязевская улица, д. 49;
[3]*ВНИИ картофельного хозяйства им. А.Г. Лорха РАСХН,*
140051 Московская обл., п. Красково-1

Важным фактором, обеспечивающим повышение продуктивности сельского хозяйства, является организация массового скрининга пораженности растений фитопатогенами. Нами проведены исследования по разработке и характеристике новых экспрессных мультипараметрических тест-систем для детекции фитопатогенов картофеля, сочетающих принцип иммунохроматографии и использование массива точек в качестве зон детекции.

Проведен скрининг антител, специфичных к X-, M-, A-, S-вирусам картофеля, обычному и некротическому штаммам Y-вируса картофеля, вирусу скрученности листьев и бактерии *Clavibacter michiganense* subsp. *sepedonicus*. Отобраны препараты антител, характеризующиеся

минимальными пределами обнаружения в микропланшетном иммуноферментном анализе – 1–20 нг/мл (вирусы) и 10^5 кл/мл (бактерия). Синтезированы и охарактеризованы наночастицы коллоидного золота с диаметром 20 нм, а также их конъюгаты со специфическими антителами. Определена оптимальная комплектация мультипараметрических иммунохроматографических тест-систем для одновременного контроля до восьми патогенов.

Изготовлены и апробированы тест-системы, позволяющие за 10-15 минут контролировать наличие патогенов в нанограммовых концентрациях. Предложенные тест-системы являются перспективной основой развития экспрессного мультипараметрического иммуноанализа – эффективного средства агротехнического и фитосанитарного контроля.

Работа выполнена при поддержке МЦП ЕврАзЭС «Инновационные биотехнологии» (государственный контракт № 16.M04.11.0022 от 29.04.2011).

DEVELOPMENT OF EXPRESS MULTIPARAMETRIC IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST-SYSTEMS FOR THE DETECTION OF POTATO PATHOGENS

Emelyanova G.K.[1,2], **Safenkova I.V.**[1], **Varitsev Y.A.**[3], **Zherdev A.V.**[1], **Vengerov Y.Y.**[1], **Dzantiev B.B.**[1]

[1]*A.N. Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences*
Leninsky prospect 33, 119071 Moscow,
[2]*Russian State Agrarian University Moscow Timiryazev Agricultural Academy*
Timiryazevskaya street 49, 127550 Moscow,
[3]*A.G. Lorch Russian Potato Research Institute, Kraskovo-1, Moscow region*

Mass screening of infected plants by phytopathogens is an important factor that provide improving agricultural productivity. We conducted research on the development and characterization of new express multiparametric test-systems for the detection of potato pathogens, combining the principle of immunochromatography and using an array of points as the test zones. Antibodies specific to potato viruses X, M, A, S, ordinary and necrotic strains of potato virus Y, potato leaf roll virus and bacterium *Clavibacter michiganense* subsp. *sepedonicus* were screened. We selected antibody preparations characterized minimum limits of detection in microwell enzyme-linked immunosorbent assay – 1–20 ng/ml (viruses) and 10^5 cells/ml (bacteria). Colloidal gold nanoparticles with a diameter of 20 nm and their conjugates with specific antibodies were synthesized and characterized. The optimal completion of multiparametric immunochromatographic test-systems for simultaneous monitoring of up to eight pathogens was determined. Test-systems that allow to control the presence of pathogens in nanogram concentrations within 10-15 minutes were prepared and characterized. The proposed test-systems are advanced basis for a further development of multiparametric express immunoassay – an efficient mean of agricultural and phytosanitary control.

This work was supported by the International Target Programme of the Eurasian Economic Community "Innovative Biotechnologies in 2011-2015" (Government Contract No. 16.M04.11.0022, April 29, 2011).

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ЧЕЧЕВИЦЫ И ЕГО МЕЧЕННЫХ СТАБИЛЬНЫМИ ИЗОТОПАМИ АНАЛОГОВ

Финкина Е.И., Ланина П.А., Богданов И.В., Мельникова Д.Н., Баландин С.В., Овчинникова Т.В.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова Российской академии наук,
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Липид-транспортирующие белки растений (LTP) – это небольшие основные белки, пространственная структура которых стабилизирована четырьмя дисульфидными связями и содержит гидрофобную впадину, являющуюся потенциальным связывающим центром. LTP растений обладают способностью обратимо связывать и переносить различные липидные молекулы. Данная способность во многом определяет многообразие выполняемых этими белками функций в растении, включая участие в биосинтезе кутина и суберина, эмбриогенезе и защите от воздействия стрессовых факторов окружающей среды.

Ранее из семян чечевицы *Lens culinaris* нами был выделен липид-транспортирующий белок Lc-LTP2, обладающий антимикробной активностью и способностью связывать жирные кислоты. Для проведения исследования методом гетероядерной ЯМР-спектроскопии пространственной структуры липид-транспортирующего белка чечевицы и его комплекса с липидной молекулой были получены рекомбинантные Lc-LTP2 и его ^{15}N- и ^{13}C, ^{15}N-меченные аналоги. Экспрессию Lc-LTP2 и его меченных стабильными изотопами аналогов проводили в клетках *E. coli* BL-21(DE3), трансформированных плазмидой pET-His8-TrxL-Lc-LTP2. Клетки выращивали при пониженной температуре, используя LB или бедную среду, содержащую [^{15}N]-хлорид аммония и [^{13}C]-D-глюкозу в качестве единственных источников атомов азота и углерода, соответственно. Выделение рекомбинантных белков проводили в несколько этапов, используя очистку гибридного белка методом металлохелатной хроматографии, диализ, расщепление гибридного белка бромцианом, очистку целевого белка с помощью повторной аффинной хроматографии и обращенно-фазовой ВЭЖХ. Гомогенность полученных препаратов и их идентичность природному белку и его ^{15}N- и ^{13}C, ^{15}N-меченным аналогам устанавливали с помощью методов электрофореза в ПААГ, МАЛДИ-времяпролётной масс-спектрометрии и автоматического микросеквенирования по методу Эдмана. Высокую степень включения изотопной метки в молекулы Lc-LTP2 подтверждали с помощью метода гетероядерной ЯМР-спектроскопии.

Работа поддержана грантами ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (соглашение № 8043 от 20.07.2012 г.) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 12-04-01224).

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION AND STABLE ISOTOPES LABELING OF THE RECOMBINANT LENTIL LIPID TRANSFER PROTEIN

Finkina E.I., Lanina P.A., Bogdanov I.V., Melnikova D.N., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V.
Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Sciences,
Miklukho-Maklaya str., 16/10, 117997 Moscow, Russia

Plant lipid transfer proteins (LTPs) are small basic polypeptides. Their tertiary structure is stabilized by four disulfide bridges and characterized by the presence of hydrophobic cavity. LTPs are able

to bind and transfer different lipid molecules. This ability seems to underlie a variety of LTP functions in plants including cutin and suberin formation, somatic embryogenesis and plant defense against environmental stresses.

Previously we purified a novel LTP from the lentil *Lens culinaris* seeds. The protein, called Lc-LTP2, possesses antimicrobial activity and binds fatty acids. In order to determine tertiary structure of the lentil lipid transfer protein and its complex with lipid molecules by heteronuclear NMR spectroscopy, the recombinant Lc-LTP2 and its ^{15}N- or ^{13}C, ^{15}N-labeled analogs were obtained. Lc-LTP2 and its labeled analogs were expressed in *E. coli* strain BL21(DE3) transformed by pET-His8-TrxL-Lc-LTP2. The cells were grown at low temperature in LB or in a minimal medium, containing ^{15}N-labeled ammonium chloride and [U-^{13}C6]-labeled glucose as the only nitrogen and carbon sources, respectively. Purification of the recombinant proteins was carried out using the fusion protein separation by immobilized metal-chelate affinity chromatography (IMAC), dialysis, CNBr cleavage of the fusion protein with the subsequent purification of the target protein by IMAC and reversed-phase HPLC. Homogeneity of the obtained recombinant proteins and their identity to the natural protein and ^{15}N- or ^{13}C, ^{15}N-labeled analogs were estimated by polyacrylamide gel electrophoresis, MALDI-TOF mass spectrometry, and N-terminal protein sequencing. A high degree of stable isotopes enrichment of Lc-LTP2 was confirmed by heteronuclear NMR spectroscopy.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the FTP "Scientific and Scientific-Pedagogical Personnel of the Innovative Russia in 2009-2013" (agreement No. 8043 of 20.07.2012) and by the Russian Foundation for Basic Research (project No. 12-04-01224).

МИКРОКУЛЬТУРА ДВУХ ВИДОВ МЕЛКОЛУКОВИЧНОГО РАСТЕНИЯ ЗЕФИРАНТЕС

Гонева Ю., Рыбалко А.Е.
Сочинский институт (филиал) ФГБУ «Российский университет дружбы народов», 354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32

Виды американского рода зефирантес Zephyranthes, относящиеся к семейству амариллисовых Amaryllidaceae, происходят преимущественно из тропических и субтропических регионов Северной, Центральной и Южной Америки, а также Вест-Индии, значительно реже – из центральных умеренно-тёплых регионов Аргентины и Чили и северной части Патагонии, где эти многолетние, луковичные, низкорослые, до 15-35 см, растения освоили разнообразные климатические условия и экологические ниши – от низменных речных долин, влажных тропических лесов и сухих степей, до холодного высокогорья с высотами до 3-4 тыс. м над уровнем моря. Как и некоторые другие амариллисовые зефирантесы – эти нежные цветы тёплого ветерка (греч. zephyros тёплый западный ветер, anthos – цветок), или зефирные цветы являются травянистыми бесстебельными растениями с узкими, обычно линейными листьями, широко открытыми лилиевидными, крокусовидными или звёздчатыми одиночными цветками на относительно коротком цветоносе, до 20 см высотой, и, как правило, ярко выраженной сезонностью. Плод – коробочка с мелкими уплощёнными чёрными семенами. Многие зефирантесы развивают свои листовые розетки и цветут во влажный период, за что и называются по-английски дождевыми лилиями (Rain Lily), другие виды или селекционно выведенные сорта являются вечнозелёными растениями, сохраняющими листья круглый год. В народе Зефирантес получил название «Выскочка» – за быстрое и как бы неожиданное появление цветоносов и распускание цветков. Растение развивается так быстро, что, кажется, видишь, как раскрываются бутоны. Сухое время года большинство природных видов зефирантесов спокойно переживают в безлиственном состоянии в виде покоящихся в земле, устойчивых

к засухе, пожарам и вредителям (за счёт содержащихся ядовитых веществ) луковиц диаметром до 2-3 см (11).

В наших исследованиях в культуру *in vitro* введены 2 вида зефирантеса Z. candida и Z. grandiflora, имеющие значение для ландшафтного строительства и фармацевтической промышленности.

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ПИЩЕВОГО, ЛЕКАРСТВЕННОГО И ОРНАМЕНТАЛЬНОГО РАСТЕНИЯ NEPETA CATARIA L.

Губаз С.Л.,
Ботанический институт Академии наук республики Абхазия,
г. Сухум, ул. Гулия, 24. E:male sbsapsabara@mail.ru

Nepeta – род, содержащий около 250 разновидностей цветковых растений семейства Lamiaceae. Члены этой группы известны как кошачья мята из-за их эффекта на кошек – nepetalactone, содержавшийся в растениях, связывают с обонятельными рецепторами кошек, типично получающих временную эйфорию (1). Nepeta cataria L. традиционно потребляется как пищевая добавка. В тропическом климате, где распространены переносимые едой инфекции, она используются в продуктах питания как консервант (2). Кошачья мята также используется в растительных лекарственных средствах как атидепрессант (2).

На Кавказе распространены виды N. cataria L., N. grandiflora M. Bieb., N. pannonica L., N. supine Steven. (3). Ведущиеся по этому растению исследования в России пока еще недостаточны. Хотя эти виды не включены в перечень охраняемых, их можно рассматривать как потенциально уязвимые в силу своих биологических особенностей. Исходный материал (N. cataria L.) собирали в районе Красной Поляны Адлерского района (Медвежий угол) в сентябре 2012 года в конце цветения. Семена высевали на влажный вермикулит. Всходы появились через 10 дней. 30 дневные сеянцы были стерилизованы и перенесены на питательную среду МС с 1 мг/л бензиламинпурина и 0,1 мг/л нафтилуксусной кислоты. Было получено 2 стерильные культуры, которые образовали темно-зеленую гранулярную массу. Одна 40 дневная культура в конце декабря 2012 года расчеренкована на 4 варианта среды с различными цитокининами (контроль, кинетин, БАП, 2-iP). Всего получено 40 культур.

1. Billing J, Sherman PW. Antimicrobial functions of spices: why some like it hot. Quarterly Review of Biology. 1998;73(1): pp. 3–49.

2. Sherman PW, Hash GA. Why vegetable recipes are not very spicy. Evolution and Human Behavior. 2001;22(3):147–163.

3. Солодько А.С., Нагалевский М.В., Кирий П.В.Атлас флоры Сочинского Причерноморья. Дикорастущие сосудистые растения. Сочи, 2006, 287 с.

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ CENTAURIUM ERITHRAEA

Гварамия Н., Рыбалко А.А.
Сочинский институт (филиал)
ФГБУ «Российский университет дружбы народов»,
354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32.

Centaurium erythraea Rafn. является важным медицинским растением, принадлежащим семейству Gentianaceae. По систематике Centaurium является родом, состоящим из 20 видов, входящих

в семейство горечавковых (Gentianaceae), трибы Chironieae, субтрибы Chironiinae. Растение производит гликозиды секоиридоиды в воздушных частях, главным образом gentiopicroside, swertiamarine и sweroside. Эти составы проявляют антибактериальное и гепатопротективное действия (Skrzypczak и др., 1993; Kumarasamy и др., 2003). Эти гликозиды также используются в пищевой промышленности в качестве компонентов некоторых напитков (Vagnerova, 1992). Чрезмерные сборы C. erythraea могут привести к существенному сокращению природных популяций. Хотя в Сочинском Причерноморье этот вид не причислен к защищенным, его можно отнести к подверженным антропологическому давлению. Методы культуры растительных клеток и тканей используются для промышленного производства secoiridoids в качестве альтернативных методов для массового производства фармакологически важных растений (Лю и др., 2004).

В наших исследованиях растения C. erythraea собирали в природных условиях Адлерского р-на г. Сочи. Пересаженные в контейнеры растения выдерживали в лаборатории, а после отцветания семена извлекали из коробочек на влажный вермикулит в пластиковых контейнерах. Образовавшиеся проростки стерилизовали по известной методике и переносили в пробирки с питательной средой Мурасиге-Скуга (1962) с добавками бензиламинопурина (1-2 мг/л) и нафтилуксусной кислоты (0,1 – 0,2 мг/л). Единичные стерильные культуры подвергали размножению в пробирочной культуре на той же среде. В течение 2 мес. получен коэффициент размножения, равный 1:40 – 1:50. Что дало возможность получить количество морфогенной массы, достаточное для передачи на исследование содержания секоиридоидов и определения возможности использования в косметической и фармацевтической промышленности.

ПОЧВЕННЫЕ СТРЕПТОМИЦЕТЫ – ПРОДУЦЕНТЫ БАВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ ФИТОЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ

Иутинская Г.А., Белявская Л.А., Козырицкая В.Е., Матюша Т.В.
Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины
Украина, Д 03680, г. Киев, ул. Заболотного, 154

Использование препаратов, созданных на основе биологически активных веществ (БАВ) микроорганизмов, – перспективное направление биотехнологий. Эффективными продуцентами метаболитов для биоконтроля численности фитопатогенов являются представители рода *Streptomyces*.

На основе коллекции культур стрептомицетов ИМВ НАН Украины селекционирован высокопродуктивный штамм *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас-2179, создан биопрепарат аверком, содержащий антибиотик авермектин и сбалансированный комплекс метаболитов, проявляющий антипаразитарный и фитостимулирующий эффект.

Исследования биосинтетической способности *Streptomyces avermitilis* УКМ Ас-2179 показали, что культура кроме антипаразитарного антибиотика авермектина способна образовывать витамины группы В, аминокислоты, ненасыщенные жирные кислоты, в т.ч. полиненасыщенную арахидоновую кислоту, которая является индуктором устойчивости растений. Культура синтезирует гормоны-стимуляторы ауксиновой, цитокининовой и гиббереллиновой природы. Впервые показано, что продуцент образует стероидные гормоны: холестерол, эргостерол и 24-эпибрассинолид, которые являются индукторами системной устойчивости растений к фитопатогенам и стрессовым факторам окружающей среды.

В лабораторных, вегетационных и полевых опытах подтверждена эффективность действия препарата против широкого спектра фитогельминтов: *Meloidogine incognita, Ditylenchus dipsaci, Pratylenchus pratensis, Tylenchobrynchus dubius* и др. В производственных условиях гидропонных теплиц были показаны фитостимулирующие и фитозащитные свойства препарата. При

обработке аверкомом огурцов сорта Анжелина удлинялся период продуктивной вегетации растений, возрастало количество генеративных органов и завязи (на 23-28%), уменьшалось поражение корневыми гнилями, мозаичным увяданием растений. В результате урожайность огурцов увеличивалась на 20,8% по сравнению с контролем.

Таким образом, перспективным направлением микробной биотехнологии является создание комплексных биопрепаратов на основе БАВ стрептомицетов, обеспечивающих многофункциональный эффект (фитозащитное, ростстимулирующее и антистрессовое действие).

SOIL STREPTOMYCETES AS PRODUCERS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FOR CREATING BIOPREPARATION WITH PHYTOPROTECTIVE EFFECT

Iutynskaya G.A., Belyavskaya L.A., Kozyritskaya V.E., Matyusha T.V.
Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine
154 , Zabolotny str., D 03680, Kiev, Ukraine

The use of preparations created on the basis of biologically active substances (BAS) of microorganisms is a promising direction of modern biotechnologies. The efficient producers of metabolites for plant pathogens biocontrol are species Streptomyces.

On the basis of the streptomycetes collection of IMV NAS of Ukraine was selected the high-efficient strain of *Streptomyces avermitilis* UCM Ac-2179, was created biopreparation avercom containing balanced complex of metabolites that demonstrates anti-parasitic and phytostimulating effects.

The researches of biosynthetic ability of *Streptomyces avermitilis* UCM Ac-2179 have shown that culture synthesizes not only anti-parasitic antibiotic avermectin but B-vitamins, amino acids, unsaturated fatty acids including polyunsaturated arachidonic acid, which is an inducer of plant resistance. The culture synthesizes auxin, cytokinin and gibberellic hormones-stimulants. It was shown for the first time that this producer forms some steroids: cholesterol, ergosterol and 24-epibrassinolide which are inducers of systemic plant resistance to pathogens and environmental stress.

In the laboratory, vegetative and field experiments the effectiveness of the preparation against a wide range of plant-parasitic nematodes (*Meloidogine incognita, Ditylenchus dipsaci, Pratylenchus pratensis, Tylenchobrynchus dubius* etc) was confirmed. In production conditions of hydroponic greenhouses phytostimulating and phytoprotective properties of the bioprepatation were shown. At the avercom application of cucumbers Angelina variety the period of productive plant growth was prolonged, the number of generative organs and germ increased (at 23-28%), the lesion by root rot and mosaic withering of plants decreased. As a result, the yield of cucumbers increased by 20,8% in comparison with the control.

So, the creation of complex biopreparations based on BAS of streptomycetes providing multifunctional effect (phytoprotective, growth-promoting and anti-stress properties) is a promising direction of microbial biotechnology.

ОПТИМИЗАЦИЯ БИОСИНТЕЗА ИНДОЛИЛ-3-УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ И ГИББЕРЕЛЛИНОВ ТЕРМОТОЛЕРАНТНЫМ ШТАММОМ ASPERGILLUS TERREUS 8

Хамидова Х.М., Паттаева М.А., Хамидов Д.М.
Институт Микробиологии АН РУз
100128, ул. А. Кадыри 7Б, Ташкент, Узбекистан, e-mail: info@microbio.uz

В особых климатических условиях Узбекистана важную роль играют микроорганизмы, которые наиболее адаптированы к условиям окружающей среды. Микромицеты, выделенные из

ризосферной почвы, способны расти при высоких температурах и продуцировать физиологически активные соединения.

Целью настоящих исследований являлось изучение синтеза индолилуксусной кислоты (ИУК) и гиббереллинов (ГК) термотолерантным штаммом Aspergillus terreus 8, выделенным из ризосферных почвенных образцов пшеницы, на различных углеродных и азотных источниках, и выявление наиболее оптимальных условий для продуцирования ИУК. Основными источниками углерода служили сахароза, глюкоза или меласса, азота – NH_4NO_3, KNO_3 или $NaNO_3$, внесенные в среду Чапека в различных соотношениях. Кроме этого, были использованы все изомеры триптофана во всех вариантах, как индуктора ИУК. Так как Aspergillus terreus 8 являлся термотолерантным, во всех опытных вариантах штамм выращивали при 45°С на качалке в течение 14 дней.

Из исследованных углеродных источников, в варианте сахароза+NH_4NO_3 было синтезировано наибольшее количество ИУК и ГК. Анализ культуральной жидкости показал, что штамм в этих условиях продуцировал 6,1 мг/л ИУК и 44,5 мкг/л ГК. В среде, содержащей мелассу+KNO_3, синтезировалось всего 2,3 мг/л ИУК и 15,6 мкг/мл ГК. Таким образом, показано, что из испытанных источников, в среде состоящей из сахарозы и NH_4NO_3 синтезируется максимальное количество ИУК и ГК. Из исследованных индукторов, наиболее оптимальным оказался L-триптофан, в присутствии которого было синтезировано максимальное количество ИУК – 6,1 мг/л, а в среде с DL-триптофаном – 2,74 мг/л. В присутствии D-триптофана в культуральной жидкости во всех вариантах не обнаружено ИУК, но продуцирование ГК обнаруживалось во всех экспериментальных вариантах.

OPTIMIZATION OF BIOSYNTHESIS OF INDOLE-3-ACETIC ACID AND GIBBERELLINS BY THERMOTOLERANT STRAIN OF ASPERGILLUS TERREUS 8

Khamidova Kh. M., Pattaeva M.A., Khamidov D.M.
Institute of microbiology of the Academy of Sciences of Uzbekistan
100128, 7B, A.Kadyri str., Tashkent, Uzbekistan, e-mail: info@microbio.uz

In special climatic conditions of Uzbekistan the microorganisms which are most adapted to the environmental conditions are of great importance. Micromycetes, isolated from rhizospherous soil are able to grow under high temperature and produce physiologically active combinations.

The purpose of the present study is to investigate indoleacetic acid (IAA) and gibberellins (GA) synthesis by thermotolerant strain of Aspergillus terreus 8, isolated from rhizospherous soil samples of wheat on various carbon and nitrogen sources, and to reveal the most optimal conditions for IAA production.

The main sources of carbon were saccharose, glucose or molasses nitrogen – NH_4NO_3, KNO_3 or $NaNO_3$ introduced into Chapek's medium in different ratios. Besides, all tryptophan isomers with all variants serving as IAA inductor were used. Aspergillus terreus 8 being thermotolerant the strain in all its experimental variants was growing under 45°C, using shaker during two weeks.

Concerning the investigated carbon sources the most amount of IAA and GA was synthesized in the variant with saccharose + NH_4NO_3. The analysis of the cultural liquid revealed the production of 6.1 mg/l of IAA and 44.5 mg/l of GA by this strain under such conditions. Only 2.3 mg/l of IAA and 15.6 mkg/l of GA was produced in the medium containing molasses + KNO_3. Thus, it was shown that of the investigated sources the maximum amount of IAA and GA was synthesized in the medium containing saccharose and NH_4NO_3. As far as the investigated inductors the most optimal one was proved to be L-tryptophan in which presence the maximum amount of IAA equal to 6.1. mg/l was synthesized, while in the medium with DL-tryptophan – 2.74 mg/l. In the presence of D-tryptophan IAA

was not found in the cultural liquid in all variants, but GA production was found in all experimental variants.

МОДУЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОРФОГЕННЫХ ЗОН В КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЕ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ &(BETA VULGARIS L.)

Кляченко О.Л., Лиханов А.Ф., Крыловская С.А.
Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
Украина, 03041, Киев, ул. Героев Обороны, 13,
Кафедра экобиотехнологии и биоразнообразия

Сахарная свекла (*Beta vulgaris* L.) – важная сельскохозяйственная культура, в селекции которой получение растений-регенерантов путём непрямого морфогенеза является наиболее актуальными. Наименее изученными остаются вопросы структурной организации меристемоидов, а также инициация и механизмы образования морфогенных зон в каллусной культуре сахарной свеклы.

В исследованиях использовали диплоидные гибриды Ялтушковский МС 72, Украинский МС 70, Ивановский МС 33, Атаманша, Ворскла, Катюша и триплоидные Александрия, Белоцерковский МС 57. Морфогенный каллус индуцировали на модифицированной среде Мурасиге-Скуга с добавлением 100 мг/л мезоинозитола, 0,5 мг/л тиамина, 1 мг/л 6-бензиламинопурина, 0,5 мг/л нафтилуксусной кислоты, 0,1 мг/л индолилуксусной кислоты.

Нами была изучена специфика образования меристемоидов в каллусных тканях сахарной свеклы 2-го (5-6-я неделя) и 3-го (8-9-я неделя) пассажей.

В результате исследований было установлено, что в меристемоидных конусах и небольших группах клеток, которые функционируют как аттрактанты и центры синтеза гормонов, в окружении паренхимы со значительным отложением в клеточных стенках каллозы запускается каскад процессов, ответственных за регуляцию развития васкулярной системы и постепенной дифференциации тканей, в которых выделяются основные структурные элементы аксиального органа. В соответствии с пространственно-структурной организацией морфогенные зоны в системе каллусных тканей сахарной свеклы могут рассматриваться как отдельные модули, каждый из которых частично или полностью отделён от неморфогенной крупными паренхимными клетками с развитыми вторичными клеточными стенками.

MODULE ORGANIZATION OF MORPHOGENETIC ZONES IN A SUGAR BEET (*BETA VULGARIS* L.) CALLUS CULTURE

Klyachenko O.L., Likhanov A.F., Krylovskaya S.A.
National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Ukraine, 03041, Kiev, 13, Heroiv Oboronu st.,
Ecobiotechnology and biodiversity department

Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) is an important crop, in the selection of which obtaining of plant regenerants through the indirect morphogenesis is the most relevant. The worst studied issues are structural organization of meristemoids, and also initiation and mechanisms of morphogenic zones formation in callus culture of sugar beet.

In investigation diploid hybrids Yaltushkovsky MS 72, Ukrainsky MS 70, Ivanovsky MS 33, Atamansha, Vorskla, Katyusha and triploid Alexandria, Belotserkovsky MS 57 were used. Morphogenic callus was induced on the modified Murashige-Skoog medium supplemented with 100 mg/l meso-

Inositol, 0.5 mg/l thiamine, 1 mg/l 6-benzylaminopurine, 0.5 mg/l naphthaleneacetic acid, 0.1 mg / l indoleacetic acid .

The specificity of meristemoids formation in callus tissue of sugar beet of the 2nd (5-6th week) and 3rd (8-9th week) passages was studied.

Studies have found that in meristemoids cones and small groups of cells that act as attractants and hormone synthesis centers, surrounded by parenchyma with significant deposition in the cell walls of callose, the cascade of processes responsible for the regulation of the vascular system and the progressive differentiation of tissues is triggered, which highlights the main structural elements of the axial body. According to the spatial and structural organization of morphogenic zones in the system of sugar beet callus tissue can be analyzed as separate modules, each of which are partially or completely separated from non-morphogenic large parenchymal cells with secondary cell walls.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА МОЛЕКУЛЯРНОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ АЛЬТЕРНАРИОЗА КАРТОФЕЛЯ И ТОМАТА

Кокаева Л.Ю., Березов Ю.И.

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова,
биологический факультет, кафедра микологии и альгологии,
119991, Российская Федерация, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр.12

Альтернариоз – опасное заболевание картофеля и томата. Оно распространено практически по всему ареалу возделывания этих культур и при благоприятных погодных условиях вызывает существенное снижение урожая. В работе проведено сравнение структуры участков геномов крупно- и мелко- споровых изолятов возбудителей альтернариоза, выделенных в 2007–2011 годах с пораженных образцов картофеля и томата в Европейской части России и на Дальнем востоке. Для идентификации видового состава было проведено сравнительное изучение последовательности ядерной ДНК, кодирующей рибосомные гены и транскрибируемый межгенный участок ITS5-ITS4. В результате работы были определены нуклеотидные последовательности исследуемого участка длиной 595 пн для мелкоспоровых, 605 пн для A. solani и 627 для A. infectoria.

Анализ генома *Alternaria* показал разделение исследуемых штаммов на 3 клады: *A. solani, A. infectoria* и мелкоспоровые. Обнаруженные различия между последовательностями этих видов позволили нам сконструировать специфичные праймеры для избирательной амплификации этих групп. Разработанный метод ПЦР-диагностики законсервированных в 70% спирте пораженных альтернариозом листьев картофеля и томата позволила выявить морфологически не идентифицируемые и не выделяемые в чистую культуру виды. Также было показано, что заражения листьев картофеля могли быть вызваны разными видами рода *Alternaria,* причем симптомы не отличались.

Разработанный нами метод позволил упростить и автоматизировать определение видов Alternaria, паразитов картофеля и томата, и успешно проводить идентификацию не образующего конидии мицелия.

DEVELOPMENT OF MOLECULAR IDENTIFICATION METHOD OF EARLY BLIGHT PATHOGENS OF POTATO AND TOMATO

Kokaeva L.Yu., Berezov Yu.I
Moscow State University, Faculty of Biology,
Department of Genetics, Russian Federation,
Moscow, GSP-1, Lenin Hills, d. 1, st. 12

Early blight is a dangerous potato and tomato disease, typical in the whole area of cultivation of these crops. This disease is able to result in the significant yield decrease. A comparative study of the genome structure has been carried out for seven large-spore and 25 small-spore strains, isolated in 2007-2011 from infected tomato and potato plants, growing in seven distant regions of the European part of Russia and Russian Far East. To identify the species composition a comparative study of nuclear DNA sequences coding ribosomal genes and intergenic transcribed spacers ITS5-ITS4 was conducted. As a result of our study, we determined nucleotide sequences of the studied region, which lengths were equal to 595 bp (small-spore isolates), 605 bp (*A. solani*), and 627 bp (*A. infectoria*), including the sequences of ITS5 and ITS4 primers.

The analysis of the *Alternaria* genome showed the studied strains are divided into three clades: *A. solani*, *A. infectoria*, and small-spore strains.

The revealed differences between the sequences of these species, allowed us to design a specific primers for the selective amplification of the corresponding genome regions *Alternaria* species groups. The developed method of PCR diagnostics of preserved in 70% alcohol infected potato and tomato leaves revealed a morphologically identified and isolated in pure culture species. It was also shown that the infection of potato leaves can be caused by different species of the genus *Alternaria*, and the symptoms did not differ

The designed primers can be used for the specific amplification of DNA of small-spore *Alternaria* species, providing their successful identification in the case of any problems with their morphological identification.

ПОЛУЧЕНИЕ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ ПРЯМОМ ПЕРЕНОСЕ КОМПЛЕКСОВ ООЦИТ-КУМУЛЮС ИЗ СРЕДЫ ДОЗРЕВАНИЯ В СРЕДУ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

Маленко Г.П., Черненко Е.Ю., Корниенко Е.В.
ГНУ Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных
биотехнологий Россельхозакадемии, отдел экспериментальной эмбриологии
127422, Москва, ул. Костякова, д. 12, стр. 4. Россия.
E-mail: kornienko.katerina@gmail.com

Одним из этапов технологии получения эмбрионов крупного рогатого скота *in vitro* является оплодотворение ооцитов. Для дозревания ооцитов, как правило, используют комплексную культуральную среду, включающую 10% сыворотки крови и соответствующие гормоны. Среда оплодотворения представляет собой простую солевую среду с добавлением энергетических веществ, сывороточного альбумина, гепарина. В руководствах по получению эмбрионов крупного рогатого скота *in vitro* уделяется внимание этапу отмывания КОК от среды дозревания перед помещением их в среду оплодотворения (Gordon, 2003; Sirard, Coenen, 2006). В то же время в серии экспериментов Holm et al. (1999) при прямом переносе КОК в среду оплодотворения в среднем 87% зигот дробилось и около 50% одноклеточных эмбрионов достигали стадии бла-

стоцисты. Целью нашей работы являлось изучить возможность прямого переноса КОК из среды дозревания в среду оплодотворения.

Комплексы ооцит-кумулюс выделяли из яичников, полученных при убое животных. Дозревание ооцитов проводили в среде 199 в CO_2-инкубаторе при температуре 38,5°С в течение 22–23 часов. После завершения этапа дозревания часть КОК отмывали последовательно в 3 мл TH и 0,4 мл TF. Другую часть КОК прямо переносили из лунки со средой дозревания в лунку со средой оплодотворения. При этом плотность размещения 30–40 КОК на 0,4 мл TF в обоих вариантах сохранялась.

В наших условиях как при отмывании КОК от среды дозревания, так и при их прямом переносе из среды дозревания в среду оплодотворения в возрасте 10 суток стадии бластоцисты достигло около 37% одноклеточных эмбрионов и около 72% бластоцист вылупились из блестящей оболочки. Следует отметить, что по уровню выхода эмбрионов на стадии бластоцисты в возрасте семи суток было обнаружено достоверное различие между этими вариантами ($p < 0,05$). При этом более высокий уровень развития до стадии бластоцисты был достигнут при прямом переносе КОК в среду оплодотворения по сравнению с традиционным, включающим отмывание КОК от среды дозревания.

Таким образом, КОК крупного рогатого скота могут быть перенесены из среды дозревания сразу в среду оплодотворения без снижения показателей выхода эмбрионов на стадии бластоцисты и вылупившейся бластоцисты. Исключение этапа отмывания КОК от среды дозревания позволяет сократить расход сред и пластика, уменьшить длительность пребывания ооцитов в условиях вне CO_2-инкубатора.

IN VITRO PRODUCTION OF BOVINE EMBRYOS USING DIRECT TRANSFER OF THE CUMULUS-OOCYTE COMPLEXES FROM THE MATURATION MEDIUM INTO THE FERTILIZATION MEDIUM

G.P. Malenko, E.Yu. Chernenko, E.V. Kornienko
Centre of experimental embryology and reproductive biotechnology
Russian Academy of Agricultural Sciences
127422, Moscow, ul. Kostyakova, d. 12, str. 4, Russia
e-mail: galina_malenko@mail.ru

In vitro fertilization is one of the most important stages in the process of *in vitro* production of bovine embryos (IVP). Medium used for IVF is relatively simple containing only pyruvate, lactate, BSA and heparin, in comparison to the complex culture medium used for IVM additionally supplemented with 10% FCS and hormones. To exclude components of the maturation medium that can be detrimental for IVF, cumulus-oocyte complexes (COCs) are washed prior to transfer into the fertilization medium according to the standard IVP protocols (Gordon, 2003; Sirard, Coenen, 2006). However, Holm et al. (1999) were able to obtain high embryonic development rates using direct transfer of COCs into the fertilization medium in a set of experiments. On average, about 87% of zygotes cleaved and about 50% of them reached the blastocyst stage. The purpose of the present study was to investigate the effect of the direct transfer of COCs from the maturation medium into the fertilization medium on the development rates of bovine embryos compared to the developmental rates of embryos obtained after COCs were treated according to the standard procedure.

COCs were obtained from ovaries collected at the local abattoir. *In vitro* maturation was carried out for 22-23 hours at 38.5°C in TCM-199 in the CO_2-incubatior. After completion of IVM COCs were divided into two groups. The first group was washed in 3 ml of TH and 0.4 ml of TF media be-

fore COCs were placed into the fertilization medium. The second group was transferred directly from a well with IVM medium into a well with IVF medium. The ratio of 30-40 COCs per 0.4 ml of the fertilization medium in one well was kept in both variants.

In both of the experimental groups, approximately 37% of the zygotes reached the blastocyst stage and approximately 72% of obtained blastocysts hatched by the age of 10 days after fertilization. It should be noted, that there was a statistically significant difference between the two groups on Day 7 ($p<0.05$). The higher developmental rate of the embryos was observed in the group, where COCs were transferred directly into the fertilization medium.

Thus, bovine COCs may be transferred directly from the maturation medium into the fertilization medium without decrease in developmental rates of the embryos on the blastocyst and hatched blastocyst stages. Exclusion of the additional step can help to preserve laboratory materials and media used for washing and shorten time that COCs spend outside the CO2-incubatior.

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И СВОЙСТВ ГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕКТИНОВЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БИОМАТЕРИАЛОВ

Дурнев Е.А., Литвинец С.Г., Злобин А.А., Мартинсон Е.А.
ФГБОУ ВПО «Вятский государственный университет»,
610000, г. Киров, ул. Московская, д. 36

Изучение пектиновых гелей имеет особый интерес в связи с проблемой создания новых функциональных материалов. Свойства гелей, образованных физиологически активными пектинами, а также их надмолекулярными комплексами, до настоящего времени не изучались.

Выделены пектиновые полисахариды из дикорастуших растений (рябины обыкновенной Sorbus aucuparia L., борщевика обыкновенного Heracleum sphondylium L. и конского щавеля Rumex confertus Willd.), а также каллусной ткани стебля рябины обыкновенной и дана их общая химическая характеристика. Показано, что углеводные цепи пектиновых полисахаридов плодов рябины обыкновенной содержат протяжённые линейные области частично метилэтерифицированного гомогалактуронана (рамногалактуронана) и разветвленные области, содержащие нейтральные моносахаридные остатки, характерные для рамногалактуронана-I. Пектиновые полисахариды борщевика обыкновенного и конского щавеля содержат 88-89% остатков галактуроновой кислоты и минорные количества нейтральных моносахаридных остатков и представлены слаборазветвленными рамногалактуронаном и/или галактуронаном.

Установлена зависимость функциональных свойств надмолекулярных гелевых структур от особенностей строения полисахаридов, которые его образуют. Определено влияние концентрации полисахарида, ионного состава среды и температуры на процесс гелеобразования. Получены образцы пектиновых гелей разной морфологии (частицы, пластины, пленки) и изучена их микроструктура с помощью методов электронной и атомно-силовой микроскопии.

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 14.B37.21.0108.

INVESTIGATION OF THE STRUCTURE AND PROPERTIES OF GELS BASED ON PHYSIOLOGICALLY ACTIVE PECTIC POLYSACCHARIDES FOR THE DEVELOPMENT OF NEW FUNCTIONAL BIOMATERIALS

Durnev E.A., Litvinets S.G., Zlobin A.A., Martinson E.A.
Vyatka State University,
610000, Kirov, Moskovskaya st., 36

The study of pectin gels has a particular interest in connection with the problem of creating of new functional materials. The properties of the gels formed by physiologically active pectin and their supramolecular complexes have not yet been studied.

Pectic polysaccharides were isolated from wild plants (mountain ash Sorbus aucuparia L., common hogweed Heracleum sphondylium L. and sorrel Rumex confertus Willd.), and callus tissue of stem of mountain ash and given their general chemical characteristics. It is shown that the carbohydrate chains of pectic polysaccharides of fruits of mountain ash contain long linear part of methylesterified homogalacturonan (rhamnogalacturonan) and branched regions containing neutral monosaccharide residues characteristic of rhamnogalacturonan-I. The dependence of the functional properties of supramolecular structures from the gel structural features of polysaccharides that form it. Effect of the concentration of the polysaccharide, the ionic composition of the medium and temperature on the gel has found. The samples of pectin gels of varying morphology (particles, plates, films) were obtained. Their microstructure has studied by means of electronic and atomic force microscopy.

The study was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation, the agreement 14.B37.21.0108.

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ РЕДКОГО РАСТЕНИЯ PRIMULA KOMAROVII LOSINSK

Мумджян А.С., Рыбалко А.Е.
Сочинский институт (филиал) ФГБУ «Российский университет дружбы народов»,
354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32.

В Сочинском Причерноморье произрастают следующие виды примулы: Primula algida Adams, P. amoena M. bieb., P. auricular Lams., P. komarovii Losinsk., P. macrocalics Bunge, P. meyeri Rupr., P. sibthorpii Hoffmanns, P. vulgaris Huds., P. woronowii Losinsk. (1). Это первоцветы, имеющие высокую декоративность, что делает их важным компонентом разработки форм ландшафтного дизайна нового поколения. Среди них исчезающие виды (P. komarovii Losinsk. и P. woronowii Losinsk) (2). Представляется важным разработка методов микроразножения. Сообщают о методе клонового размножения *in vitro* Primula veris L. (4). Эта разновидность, важная для медицины, была культивировна среде MS Murashige и Skoog (1962) с бензиламинопурином (БА) – 4.44 μM и 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислотой (2,4-Д) – 1.13 μM. Укорененная *in vitro* рассада была пересажена в горшки для акклиматизации. Фитохимический анализ показал, что составы флавоноидов в побегах с листьями в культуре *in vitro* были подобны содержащимся в листьях интактных растений.

Мы для введения в культуру *in vitro* P. komarovii Losinsk. использовали среду MS с бензиламинопурином и нафтилуксусной кислотой в различных концентрациях. Получены морфогенные каллусы.

1. Солодько А.С., Нагалевский М.В., Кирий П.В.Атлас флоры Сочинского Причерноморья. Дикорастущие сосудистые растения. Сочи, 2006, 287 с.

2. Солодько А.С., Кирий П.В.«Красная книга Сочи. Редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды». Том 1. Растения и грибы. Русское географическое общество. Сочи, 2002. 144 с.

4. Morozowskan M., Wesolowska M. *In Vitro* Clonal Propagation of Primula veris L. and Preliminary Phytochemical Analysis. ACTA BIOLOGICA Séries Botanica 46: 169-175, 2004.

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ИСЧЕЗАЮЩЕГО РАСТЕНИЯ *PANCRATIUM MARITIMUM L.*

Павлова Л.Е., Рыбалко А.Е.
Сочинский институт (филиал) ФГБУ «Российский университет дружбы народов», 354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32.

Pancratium maritimum L. семейства Amaryllidaceae (синоним Himenocallis), это многолетнее растение, растущее на песчанных берегах. Он образует туникатные луковицы. Это растение привлекает большой интерес не только из-за своей декоративности, но и как источник алкалоидов и флавоноидов, которые имеют фармацевтические и другие свойства (1). Так, панкратистатин проявляет противораковые действия (2).

В Сочинском Причерноморье этот вид был охарактеризован как находящихся под угрозой исчезновения, в том числе и от результатов деятельности человека. Ранее в нашей лаборатории были отработаны условия регенерации некоторых луковичных растений в культуре *in vitro*. Учитывая эти наработки мы провели исследования по получению стерильных тканей P. maritimum L. с целью разработки программы сохранения этого вида в регионе, а также изучения возможности использования его как источник фармацевтических субстанций. Исходный материал отбирали в с. Леселидзе республики Абхазия. Луковицы предварительно промывали в проточной воде и очищали от сухих чешуй, а затем стерилизовали по методике, используемой нами для других луковичных, которая дала положительные результаты. От луковиц отделяли чешуи, измельчали на эксплантыразмером 3 х 3 мм и высаживали на питательную среду МС с добавкой нафтилуксусной кислоты (НУК) и бензиладенина (БА) в различных концентрациях. В настоящее время получены стерильные культуры, что открывает возможности для проведения различных опытов согласно поставленной цели.

1. Nikopoulos D., Alexopoulos A.A. *In vitro* propagation of an endangered medicinal plant: Pancratium maritimum L. Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.6(2) : 393-398. 2008

2. Pettit, G., Pettit, G., Groszek, G., Backhaus, R., Doubek, D., Barr, R. Meerow, A. 1995. Antineoplastic agents. An investigation of the Amaryllidaceae genus Himenocallis. J. Natural Products-LLoydia 58:756-759.

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СПЕРМИЕВ ЦЕННЫХ ВИДОВ РЫБ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ КРИОКОНСЕРВАЦИИ

Почевалова Т.И., Назарова А.Р.
Астраханский государственный университет, 414056, г. Астрахань, ул. Татищева 20 а

Проведенный нами морфофункциональный анализ дефростированной семенной жидкости русского осетра, севрюги и белорыбицы позволил выявить функциональные и цитологические

изменения спермиев в зависимости от ряда условий криоконсервации, а именно от состава криопротекторной среды, способа замораживания, температурных условий хранения и дефростации биоматериала.

Как показали исследования, наиболее чувствительной к низкотемпературным воздействиям является головная часть спермиев. После дефростации при использовании различных по составу криозащитных сред у спермиев русского осетра и севрюги были обнаружены различные нарушения с явными признаками деструкции: изменение формы головок спермиев, их сморщивание или, напротив, набухание, шизоцитоз, а также разрушение хвостовой части.

Также обнаружена зависимость деструктивных признаков клеток белорыбицы от состава криозащитных сред. Наиболее выраженные изменения на клеточном уровне заключались в том, что спермии белорыбицы имели округлую форму, с набуханием спермиев и их хвостовой части в одних случаях и явными признаками разрушения спермиев в других.

Полученные данные послужили основой для разработки электронной базы данных "Морфологические нарушения спермиев рыб при различных условиях замораживания", и поиска эффективных по составу криозащитных сред, обеспечивающих высокий процент выживаемости клеточного материала в результате процессов криоконсервации – дефростации.

CYTOLOGICAL CHANGES SPERM OF VALUABLE SPECIES OF FISH DEPENDING ON THE CONDITIONS OF CRYOPRESERVATION

Pochevalova T.I., Nazarova A.R.
Astrakhan State University,
414056, Astrakhan, Tatishev st. 20 a

By our morphological analysis the seminal fluid after defrostation of seminal liquid Russian sturgeon, stellate sturgeon, inconnu allowed to reveal functional and cytological changes sperm depending on a number of conditions cryopreservation, namely, the composition of the cryoprotective environment, way of freezing, temperature conditions of storage and defrostation biomaterial.

As the research showed, the most sensitive to the effects of low-temperature is the head part of the sperm. After defrostation when using various composition cryoprotective environments have sperm Russian sturgeon and stellate sturgeon were found various violations with obvious signs of destruction: change of the form of heads sperm, their wrinkling or, on the contrary, swelling, as well as the destruction of the tail.

Also discovered the dependence of the destructive signs of cells inconnu on the composition of the cryoprotective environments. The most expressed changes at the cellular level were that sperm inconnu have spherical the form, with swelling of the sperm and their tail in some cases and obvious signs of destruction sperm in the other.

The obtained data served as a basis for the development of the electronic database "Morphological violations sperm fish under different conditions freeze", and the search for effective on the composition of the cryoprotective environments, providing a high percentage of survival of the cell material as a result of the processes of cryopreservation – defrostation.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОДУКЦИИ ЛАККАЗЫ ШТАММОМ FUNALIA TROGII ТИ 035 НА СРЕДАХ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА

Клепиков А.А., Стерляжникова О.В., Шамцян М.М.
Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет),
190013, Россия, Санкт-Петербург, Московский пр., д. 26

Лакказа является одним из основных лигнинолитических ферментов. Подавляющее большинство лакказ относится к так называемым «голубым» медьсодержащим белкам, способным катализировать процесс четырёх электронного восстановления молекулы кислорода до двух молекул воды. При этом в качестве промежуточного продукта не образуется ни перекиси водорода ни каких либо других кислородных интермедиаторов. Лакказы из базидиальных грибов, к которым относится Funalia trogii, отличаются высоким окислительно-восстановительным потенциалом и широкой субстратной специфичностью, что делает возможным их широкое использование в промышленности, например, в целлюлозно-бумажной, в пищевой промышленности; при синтезе лекарственных препаратов и в других областях. Однако широкое применение ограничивается высокой стоимостью фермента, поэтому в настоящее время ведётся поиск новых эффективных продуцентов высокоактивных и стабильных лакказ.

В данной работе изучалась продукция лакказы штаммом Funalia trogii ТИ 035. Культура выращивалась в глубинных условиях на глюкозо-пептонных средах с различными соотношениями C:N. В качестве индуктора вносились катионы Cu^{2+}. Экстрацеллюлярную оксидазную активность определяли в нативном растворе культуральной жидкости спектрофотометрически при 410 нм. Определена термостабильность, pH и температурный оптимумы фермента.

Максимальная оксидазная активность достигнута на питательной среде с высоким содержанием азота, при соотношением C:N равным 1:2. Полученные данные показывают, что штамм Funalia trogii ТИ 035 является перспективным продуцентом для промышленного получения термостабильной лакказы.

THE STUDY OF LACCASE PRODUCTION STRAIN FUNALIA TROGII TI 035 IN MEDIA OF DIFFERENT COMPOSITION

Klepikov A.A., Sterlyazhnikova O.V., Shamtsyan M.M.
St. Petersburg State Institute of Technology (Technical University),
190013, Russia, Saint-Petersburg, Moscow Ave., 26

Laccases are a major ligninolytic enzymes. The vast majority of laccases is a so-called “blue” copper-containing proteins that catalyze the four-electron reduction of the oxygen molecule and two water molecules. In this case, neither hydrogen peroxide nor any other oxygen intermediators are formed. Laccases from basidiomycetes, which include Funalia trogii, have a high redox potential and broad substrate specificity, enabling their widespread use in the industry, such as pulp and paper, food processing, with the synthesis of pharmaceuticals and other areas . However, widespread use is limited by the high cost of the enzyme, so now is the search for new effective producers of high and stable laccases.

We study the production of laccase by strain Funalia trogii TI 035. Cultivated submerged on glucose-peptone media with different ratios of C: N. As an inducer Cu2+ cations were used. Extracellular oxidase activity was detected in the native liquid of culture media spectrophotometrically at 410 nm. Thermal stability, pH and temperature optima of the enzyme were also determined.

Maximum of oxidase activity was reached when the medium with a high nitrogen content, with the C: N ratio1:2, was used. The data show that the strain Funalia trogii TI 035 is a promising producer of thermostable laccase.

ГВОЗДИКА ИМЕРЕТИНСКАЯ – ЛЕКАРСТВЕННОЕ И ОРНАМЕНТАЛЬНОЕ РАСТЕНИЕ СОЧИНСКОГО ПРИЧЕРНОМОРЬЯ И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

Тешева Д. , Рыбалко А.А.
Сочинский институт (филиал) ФГБУ «Российский университет дружбы народов», 354348, Сочи, ул. Куйбышева, 32.

Семейство *Caryophyllaceae* на Северном Кавказе является критическим таксоном, входящим в первую десятку систематического спектра, насчитывающего 175 видов (1). Среди представителей подсемейства *Caryophylloideae* имеются полезные в хозяйственном отношении виды – лекарственные и декоративные, редкие и эндемичные, нуждающиеся в охране или бережном отношении.

Наше внимание привлек вид Dianthus imereticus (Rupr.) Schischk. – гвоздика имеретинская. В специально созданной лаборатории биотехнологии и физиологии растений на кафедре физиологии Сочинского института РУДН проведены исследования по разработке эффективной технологии введения в культуру указанного растения с применением методов биотехнологии. С этой целью из растений, выращиваемых в фитостатной камере, были отобраны нодальные эксплантаты и после стерилизации 21 из них высажены на 2 варианта питательной среды Мурасиге-Скуга (1). В качестве добавок применяли инозит – 100 мг/л, тиамин – 0,2 мг/л, пиридоксин 10 мг/л, аскорбиновая кислота – 0,2 мг/л, никотиновая кислота 0,5 мг/л, ά-нафтилуксусная кислота – 0,3 мг/л. В среду вводили сахарозу (20 г/л) и агар (0,6%). На 7 день наблюдений выявлено начало пролиферации пазушных побегов, 3 культуры оказались пораженными грибной инфекцией. Полученные стерильные культуры размножали методом черенкования в культуре in vireo нодальными эксплантами. Установлен коэффициент размножения 1:5 в месяц. Отработаны режимы акклиматизации пробирочных растений при переводе ex vitro. Результаты настоящих исследований позволяют изучить возможность создания элементов городских ландшафтов с использованием этого эндемика Кавказа. Успех этой работы будет определяться как экономическими критериями, так и социальным значением. Планируется введение в культуру *in vitro* других эндемиков Северного Кавказа.

1. Тайсумов М.А.Систематика и география подсемейства Caryophylloideae Juss. Северного Кавказа. Автореферат дисс. док. биол. наук. Астрахань – 2009, 44 с.

РОСТ И РАЗВИТИЕ PSEUDOMONAS FLUORESCENS В МИНЕРАЛОВАТНОМ СУБСТРАТЕ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ОВОЩЕЙ В ЗАЩИЩЕННОМ ГРУНТЕ

Титова Д.Г., Ефимова М.С., Дмитриева Е.Н., Марквичев Н.С.
РХТУ им. Д.И. Менделеева, каф. биотехнологии;
E-mail: Darenka-titovka@yandex.ru

В настоящее время, минеральная вата используется как субстрат для выращивания овощных культур более чем на 400 гектарах в различных тепличных комбинатах по всей России. Достоинство использования минеральной ваты: технологичность выращивания растений и ис-

ходная стерильность материала. К недостаткам можно отнести наличие остаточных концентраций фенолформальдегидных смол после полимеризации и стерильность. Корневая система растений в процессе метаболизма выделяет экссудаты- органические вещества, которые служат источником питательных веществ для микроорганизмов, в том числе и для фитопатогенов, а уровень фитопатогенов в теплицах намного выше чем в естественных условиях. Одним из аспектов защиты растений является предварительная колонизация субстрата микроорганизмами, обладающими фитостимулирующими, фитозащитными действиями, а так же обладающих способностью к биодеструкции и метаболизму фенолформальдегидных смол.

Микроорганизмом, отвечающим всем этим требованиям, является Pseudomonas fluorescens AP33.На основе этого микроорганизма производятся средства защиты растений: в сухой форме Витаплан и жидкие формы – Планриз и Витаплан-ЭКСТРА.

Для изучения колонизации минераловатного субстрата(производство Ульяновского завода) маты были разрезаны, на поверхность разреза был нанесен сухой препарат Витаплан, далее обе половины мата были соединены. В таком виде маты использовались для изучения колонизации субстрата микроорганизмами рода Pseudomonas. Для этого маты в соответствии с принятой технологией насыщались раствором минеральных удобрений при температуре окружающей среды 20С. Через фиксированные интервалы времени. в фиксированных точках объема мата отбирали пробы, в которых контролировали концентрацию клеток Pseudomonas fluorescens. По результатам эксперимента были получены данные указывающие на то что через 2 суток концентрация клеток была распределена по объему, но была неравномерной ,а на 6 сутки выровнялась и составляла 10^6клеток/литр.

Таким образом, применение сухой формы препарата Витаплан позволяет произвести равномерную колонизацию минераловатного субстрата клетками Pseudomonas fluorescens на 6 сутки.

THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF PSEUDOMONAS FLUORESCENS AT THE MINERAL WOOL SUBSTRATE FOR CULTIVATION OF VEGETABLES IN THE PROTECTED GROUND

D.G.Titova, M.S.Efimova, E.N.Dmitrieva, N.S.Markvichev
Russian Chemistry Technological University
name by Mendeleev, biotechnology department;
E-mail: Darenka-titovka@yandex.ru

At the present time, the mineral wool is used as a substrate for cultivation of vegetable crops by more than 400 hectares in the various greenhouse complexes in the whole of Russia. The advantage of the use of mineral wool is the manufacturability of cultivation of plants and the initial sterility of the material. The disadvantages are the residual concentrations of phenol formaldehyde resins after polymerization and the sterility. The root system of plants in the process of metabolism isolate exudates – organic substances, which serve as a source of nutrients for microorganisms, including for plant pathogens, and the level of plant pathogens in greenhouses is much higher than that in natural conditions. One of the aspects of plant protection is the pre-colonization of the substrate microorganisms possessing phytostimulation and phytoprotection actions, also the ability to destruction and the metabolism of phenol formaldehyde resins.

Microorganism, which meets all of these requirements, is *Pseudomonas fluorescens* AP33. On the basis of this microorganism produces the preparations for plants protection : in the dry form Витаплан (Vitaplan) and in the liquid forms – Планриз (Planriz) and Витаплан-Экстра (Vitaplan-Extra).

For the studying of the colonization of mineral substrate (the production of the Ulyanovsk plant) mats were cut, the dry preparation Витаплан (Vitaplan) was applied on the surface of the cut, then both halves of the Mata were connected. In this form mats were used for the studying of the substrate colonization by bacteria of the sp. Pseudomonas. For this mats, in accordance with the adopted technology, was filled by solution of mineral fertilizers at the ambient temperature 20C. At the fixed intervals of time, in the fixed points of the volume of the Mata was selected samples, where were controlled the concentration of cells *Pseudomonas fluorescens*. The results of the experiment have been obtained data, pointing to the fact that after 2 days concentration of cells was distributed on volume, but has been uneven , and on the 6 day became level and was 10^6 cells/liter.

Thus, the application of the dry form preparation Витаплан (vitaplan) allows to uniform colonization of mineral substrate cells *Pseudomonas fluorescens* on the 6 day.

МОДЕЛИРОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*

Ткаченко О.В.[1], **Евсеева Н.В.**[2], **Бойкова Н.В.**[1], **Дмитриенко В.В.**[2], **Матора Л.Ю.**[2], **Бурыгин Г.Л.**[2], **Лобачев Ю.В.**[1], **Щеголев С.Ю.**[2]

[1]*Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова, 410012, г. Саратов, Театральная пл. 1;*

[2]*Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, 410049, г. Саратов, пр. Энтузиастов, 13.*

Создание активно функционирующих растительно-микробных ассоциаций в культуре *in vitro* – одна из актуальных задач современной биотехнологии растений. Для ее решения необходимо комбинирование методов бактериальной колонизации и культивирования клеток, тканей и органов растений *in vitro*.

Цель данных исследований – моделирование ассоциаций бактерий *Azospirillum brasilense* Sp245 с клетками и тканями однодольных (пшеница) и двудольных (картофель) растений, культивируемых *in vitro*. При этом использовались не только целые бактериальные клетки, но и отдельные компоненты их клеточных стенок. Анализ культур проводили с использованием традиционных методов морфометрической оценки состояния клеточных и тканевых культур, иммуноферментного анализа молекулярного маркера меристематических клеток пшеницы (пролиферативного антигена инициалей – ПАИ) и иммунофлуоресцентной микроскопии на основе специфических антител к клеткам *A. brasilense* Sp245.

Анализ полученных результатов показал, что в определенных условиях азоспириллы инокулируют корни микроклонов картофеля в культуре *in vitro* и способны оказывать на них рост-стимулирующее влияние, что в дальнейшем может способствовать повышению адаптации растений к условиям выведения в грунт (*ex vitro*).

При изучении влияния бактериального липополисахарида на морфогенетический потенциал калусных клеток пшеницы было установлено, что эти молекулы не только стимулируют, но и регулируют морфогенетические процессы в соматических тканях пшеницы, повышая эффективность культивирования генотипов с низким эмбриогенным потенциалом.

Полученные данные могут быть использованы для оптимизации морфогенетических процессов в культуре *in vitro* и для дальнейшей адаптации растений к условиям *ex vitro*.

MODELING PLANT-MICROBE ASSOCIATIONS IN A CULTURE *IN VITRO*

Tkachenko O.V.[1], **Evseeva N.V.**[2], **Boikova N.V.**[1], **Dmitrienko V.V.**[2], **Matora L.Yu.**[2], **BuryginG.L.**[2], **Lobachev Yu.V.**[1], **Shchyogolev S.Yu.**[2]
[1]*Vavilov Saratov State Agrarian University,*
1 Teatralnaya Ploshchad, Saratov, 410012, Russia;
[2]*Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms,*
Russian Academy of Sciences,
13 Prospekt Entusiastov, Saratov 410049, Russia

The development of actively functioning plant-microbe associations in a culture *in vitro* is a actual problem in current plant biotechnology. Dealing with it requires that the method of bacterial colonization be combined with that of culturing of plant cells, tissues, and organs *in vitro*.

The aim of this research was to model associations of *Azospirillum brasilense* Sp245 bacteria with cells and tissues of monocotyledons (wheat) and dicotyledonous (potato) plants grown *in vitro*. The study used not only whole bacterial cells but also individual components of their cell walls. The methods employed included traditional morphometric assessment of the state of cell and tissue cultures, enzyme immunoassay of the molecular marker of wheat meristematic cells (proliferative antigen of initials, PAI), and immunofluorescence microscopy on the basis of antibodies specific for *A. brasilense* Sp245 cells.

Analysis of the obtained results showed that under certain conditions, azospirilla colonized the roots of potato microclones in a culture *in vitro* and could have a growth-promoting effect on them, which subsequently may serve to increase the adaptations of the plants to growing *ex vitro*.

A study of the effect of bacterial lipopolysaccharide on the morphogenetic potential of wheat callus cells led us to find that these molecules not only stimulate but also regulate morphogenetic processes in wheat somatic tissues, increasing the effectiveness of culturing of genotypes with low embryogenic potential.

It is suggested that the obtained data be used for optimization of the morphogenetic processes in a culture *in vitro* and for further adaptation of the plants to conditions *ex vitro*.

СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КРАХМАЛОВ, ЭКСТРАГИРОВАННЫХ ИЗ МИКРОКЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ, ПОДВЕРГНУТЫХ ВОЗДЕЙСТВИЮ ФИТОГОРМОНОВ И *ROL* ТРАНСГЕНОВ

Вассерман Л.А.[1], **Плащина И.Г.**[1], **Константинова Т.Н.**[2], **Голяновская С.А.**[2], **Аксенова Н.П.**[2], **Сергеева Л.И.**[2], **Романов Г.А.**[2]
[1]*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки*
Институт биохимической физики им. Н.М. Эммануэля РАН,
119991, Москва, ул. Косыгина, 4, lwasserma@mail.ru
[2]*Федеральное государственное бюджетное учреждение*
Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязина РАН,
127276, Москва, ул. Ботаническая, 35

Картофель (*Solanum tuberosum* L.) является одним из главных источником крахмала. Несмотря на интенсивные исследования, влияние фитогормонов на биосинтез и структуру крахмала картофеля не выяснено. Трансгенные растения, в которых модифицирован гормональный статус, могут быть использованы для этих целей. Нами ранее было показано, что введение *rol*-генов в *Agrobacterium rhizogenes* вызывает морфологические изменения, подобные фитогормональ-

ному влиянию, т.е. экспрессия *rolB*-гена аналогична действию ауксина, тогда как экспрессия, *rolC*-гена – цитокинина. Было показано, что *rolB* и *rolC* гены, введенные в геном растений, могут изменять различные характеристики клубнеобразования, такие как время появления клубней, их размер и форма, размер гранул крахмала и т.д. Использованные гены оказывают положительный эффект на параметры клубнеобразования. Однако свойства крахмалов, экстрагированных из клубней *rol*-трансгенных и фитогормональных растений картофеля, не исследованы до настоящего времени. Было исследовано влияние фитогормонов и *rol*- трансгенов на структуру и свойства крахмала. Крахмалы экстрагировали из микроклубней растений картофеля, культивированных *in vitro* (*Solanum tuberosum* L.*,* cv. *Desiree),* и их трансгенных форм, обработанных *rolB* и *rolC* генами из *Agrobacterium rhizogenes.* Эти различные формы обрабатывались фитогормонами ауксина и цитокинина. Целью работы было исследование структурных особенностей крахмала картофеля, подвергнутых экспрессии трансгенов или фитогормональной обработке. Обсуждаются термодинамические и морфологические особенности исследуемых крахмалов.

STRUCTURAL CHARACTERISTIC OF STARCHES EXTRATED FROM MICROTUBERS OF POTATO HARBORING DIFFERENT PHYTOHORMONES AND *ROL* TRANSGENES

L.A. Wasserman[1], **I.G. Plashchina**[1], **T.N. Konstantinova**[2], **S.A. Golyanovskaya**[2], **N.P. Aksenova**[2], **L.I. Sergeeva**[2], **G.A. Romanov**[2]
Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, 4, Kosygin st., 119334 Moscow, Russia, e-mail:lwasserma@mail.ru
Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, 35, Botanicheskaya st., 127276 Moscow, Russia

Potato (*Solanum tuberosum* L.*)* is one of the main sources of starch – the predominant metabolite of tubers. In spite of numerous investigations effects of phytohormones on the biosynthesis and structure of starch in potato are still unclear. Transgenic plants with modified hormonal status can be used to study this problem. In our study it has been shown that insertion of *rol*-genes of *Agrobacterium rhizogenes* evokes morphological changes similar to phytohormonal effects, i.e., the expression of the *rolB* gene resembles auxin action, whereas the expression of the *rolC* gene resembles cytokinin action. It was shown that *rolB* and *rolC* genes inserted into the plant genome could change various characteristics of tuberization, including time of tuber appearance, size and shape of tubers, size of starch granules, etc. Interestigly, investigated genes produced opposite effects on most of tuberization parameters. However, properties of starches extracted from tubers of *rol*-transgenic and phytohormone-treated potatoes were not studied so far. For better understanding the effect of *rol*-transgenes on starch granules we have investigated how phytohormones or *rol*- transgenes influence their structure and composition. Therefore the objects of our study were potato plants cultivated *in vitro* (*Solanum tuberosum* L.*,* cv. *Desiree)* and their transgenic forms harboring the *rolB* and *rolC* genes from *Agrobacterium rhizogenes.* These different forms were treated or not with phytohormones auxin and cytokinin. The goal of this study was the elucidation of some structural features of potato starches produced under conditions of *rol*-transgene expression or phytohormone treatment. The thermodynamic and morphological features of investigated starches will be presented.

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РОСТ БИОМАССЫ АСПЕРГИЛЛЫ НИГЕР (ASPERGILLUSNIGER)

ДжавадЧери
Аспирант
Электронная почта: javad.chehri@Gmail.com
Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии (К. И.Скрябина) кафедра биотехнологии
Практические расположение проекта: Медицинский Биологический Исследовательский Центр Университета Медицинских Наук Керманша

Краткое содержание

Три различных вида Аспергиллы Нигер (Aspergillus Niger)MTCC штаммов (872, 1785 и 2208) были использованы для этого проекта. Многомерные среды для роста в различные периоды инкубации были проанализированы для определения оптимального роста. Рост характеризуется своим внешним состоянием, содержанием влаги (с помощью гравиметрического метода), процентом золы и растворимости (с помощью методов Ассоциации Официальной агрохимики (AOAC), а также степенью дезактивации (посредством инфракрасной спектроскопии). Инфракрасный (ИК) спектр роста показывает сильное сходство с ИК-спектром коммерческих Аспергилл. Наши экспериментальные результаты приводят к выводу, что максимум из Аспергилл НигерMTCC 2208 был выращен в дополнительном декстрозы картофельного бульона (PDB) среды, инкубированный при 30°C в течение 120 ч при 180 оборотах в минуту. Антимикробная активность роста была протестирована против пяти видов бактерий с помощью техники диффузии дисков, которая подтвердила, что рост произошел с минимальной антимикробной активностью.

Метод выращивания:

Аспергилла Нигер в изолированной форме, картофель, глюкоза, сульфат аммония, сульфат магния, калия дигидрофосфат, крахмал, железа сульфат.

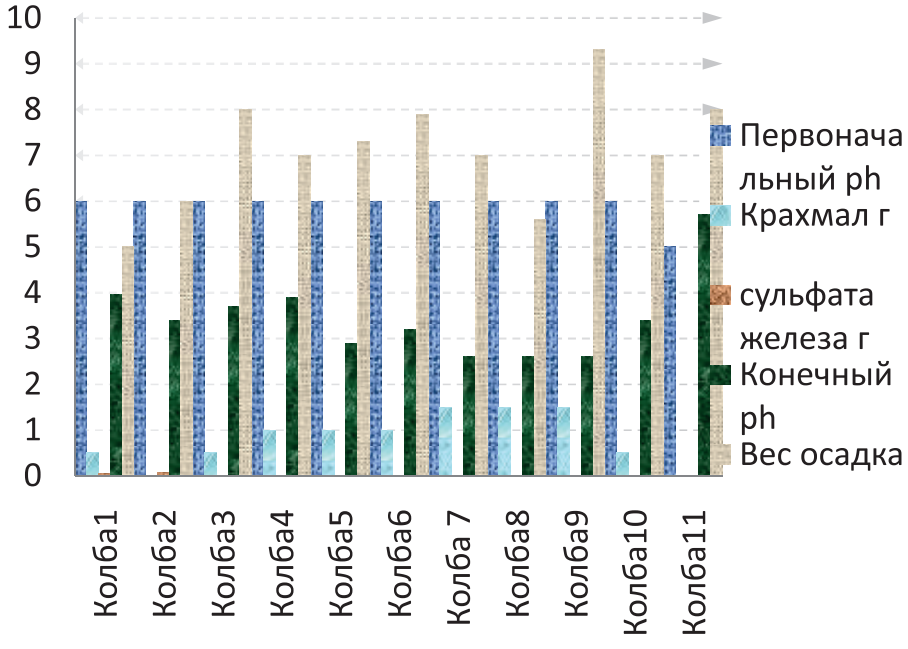
1.Картофель 300г.
2. Глюкоза 10 г.
3.Сульфат аммония 1,75 г
4.Magnesium сульфата 0,05г
5. Калий фосфатдегидрогеназы 1,75 г.
6.крахмал
7. Железа сульфат

На первом этапе сварили мы 300г картофеля в 500 мл D-воде в течение 30 мин при 90 C °. Затем мы получили экстракт, полученный экстракт около 200 мл, после этого мы добавляем 300 мл D-воды для увеличения объема до 500 мл. На следующем шаге добавить вышеперечисленные материалы 2, 3, 4,5 в наш полученный раствор и добавляем № 6, 7 согласно таблице ниже, затем поместим 500 мл нашегораствора в 11 колб (каждую колбу 50 мл и уровнем кислотности наших колб 5-6), затем поместим в автоклав на 30 минут при 120 с °. После этого мы добавили споры Аспергиллы Нигер и держали их в инкубаторе в течение 7 дней в режиме вращения (120 Rp / M) при 30 C °. После 7 дней, мы фильтровали все колбы отдельно и проверили pH, вес, как видно из таблицы результатов.

Заключение

В настоящем исследовании показано, что Аспергилла Нигер может быть использована для быстрого роста, это более дешевый метод существующий на рынке. В этом опыте вес организмом в фракции проанализирован для различных уровней посевов, испытания показали, что за счет повышения концентрации спор от 104 до 109 спор на мл, происходит четкий переход

от осадка к дисперсной форме. В итоге мы получили большие по размеру Аспергиллы Нигер и мы можем использовать этот факт для другой цели, как ферментативный метод получения хитозана.



Результат в графике

FACTORSAFFECTINGTHEGROWTH OF BIOMASS OF ASPERGILLUS NIGER

Javad Chehri
PhD Scholar at Moscow State Academy
of Veterinary Medicine, Biotechnology (K.I. Skryabin)
E-mail: javad_chehri@gmail.com
Medical Biology Research Center, Kermanshah Medical University

Abstract

Three different Aspergillus Niger MTCC strains (872, 1785 and 2208) were used for this project. Multivariate growth mediums in varying incubation periods were analyzed for thegrowth. The growthwas characterized by its physical appearance, moisture content (by means of gravimetric method), percentage of ash and solubility (through the Association of Official Agricultural Chemists (AOAC) methods) and also the degree of deactivation (with Infra-red spectroscopy). The infrared (IR) spectrum ofgrowth shows strong similarity with the IR spectrum of commercial Aspergillus. Our experimental results concluded that the maximum from Aspergillus Niger MTCC 2208 grown in supplemented Potato Dextrose Broth (PDB) medium, incubated at 30°C for 120 h in 180 rpm. The antimicrobial activity ofgrowth was tested against five bacteria by Disc diffusion technique, which confirmed thatgrowth have minimal antimicrobial activity.

Growth method:

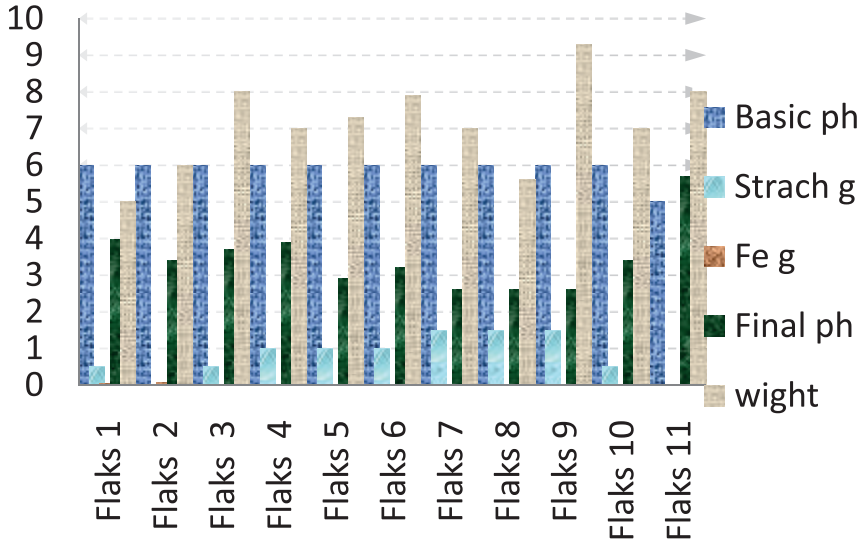
Aspergillusnigerisolatedform, Potato, Glucose, Ammonium sulfate, Magnesium sulfate, Potassium dihydrogen phosphate, Starch, Iron sulfate.

1. Potato 300g.
2. Glucose 10 g.
3 .Ammonium sulfate 1.75 g.
4.Magnesium sulfate 0.05 g.

5.Potassium dehydrogenase phosphate 1.75 g
6.Starch
7 Iron sulfate

At the first we boiled 300g potatoes in 500ml D-water for 30 minutes at 90 c°. Then we got the extract obtained of around 200ml, after that we add 300ml D-water and increase volume to 500ml. On next step add above 2, 3, 4,5materials to our obtained solution, and add No6, 7 according below table then put 500 ml of our suspension in 11 flask (each flask 50ml and ph of our flask from 5-6) then we put then in autoclave for 30 minutes in 120 c°. After that we added Aspergillus Niger spores and keep them in incubator for 7 days in the rotation mode (120 Rp/M) in 30 c°. After 7 days we filter all flasks separately and check the ph and weightas result table shows.

Conclusion:In the present research it is shown that A.niger can be used for growth faster a cheaper method exists in market. In this test Cell volume fraction analysis for the various inoculum levels tested revealed that by raising the spore inoculum level from 104 to 109 spores per ml, a clear transition from pelleted to dispersed forms occurs. In the final we have bigger A.niger cell all and we can use this matter for other purpose as enzymatic method for produce chitosan.



Result chart

ВЛИЯНИЕ ДОЗ ЦИТОКИНИНОВ НА КОЭФФИЦИЕНТ РАЗМНОЖЕНИЯ ОРНАМЕНТАЛЬНОГО И ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ LYSIMACHIA VULGARIS L.

Загороднюк Е.Д., Рыбалко А.А.
Сочинский государственный университет,
354350, г. Сочи, ул. Советская, 26-а.

Lysimachia vulgaris L. является важным лекарственным растением, применяемым как в народной медицине, так и для приготовления лекарственных форм. В медицине используются различные виды этого рода. Обладает вяжущим, желчегонным, тонизирующим, противосудорожным, обезболивающим, противовоспалительным, кровоостанавливающим и ранозаживляющим действием. В растении выявлены сапонины и аскорбиновая кислота. Недавно выявлено действие экстрактов Lysimachia foenum-graecum *L* против ожирения. В качестве активного компонента из растения выделены тритерпеновый сапонин foenumoside B.

В нашем исследовании использованы стерильные культуры Lysimachia vulgaris L. введенные нами в культуру *in vitro* ранее (2). Изучали коэффициент размножения и характер роста ткани *in*

vitro. Данные культуры используются нами для проведения лабораторных работ по дисциплинам биотехнологического направления. Была изучена интенсивность накопления органической массы этого растения в пробирочной культуре для выделения лекарственных субстанций. За 40 дней в пробирках ПБ-16 в среднем на 19 проб получено 2,5 г растительнй массы.

1. Jong Bae Seo; Sang Wook Park; Sung Sik Choe; Hyun Woo Jeong; Jae oung Park; Eun-Wook Choi; Dong-Seung Seen; Jae-Yeon Jeong; Tae Gyu Lee. Foenumoside B from *Lysimachia foenum-graecum* inhibits adipocyte differentiation and obesity induced by high-fat diet. Biochemical and Biophysical Research Communications (January 2012), 417 (2), pg. 800-806

2. Загороднюк Е.Д., Рыбалко А.Е.Разработка методики микроразмножения лекарственного растения Lysimachia vulgaris L. Материалы Московской международной научно-практической конференции (Москва, 20-22 марта, 2012 г.) М: ЗАО «Экспо-биохимтехнологии, РХТУ им. Д.И. Менделеева», с. 450-451

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

О СОСТАВЕ МАРКЕРНЫХ БЕЛКОВ И МАСЛИЧНОСТИ НЕКОТРЫХ СОРТОВ ГЕРМОПЛАЗМЫ ХЛОПЧАТНИКА

Абдуразакова З.Л., Абдуразаков. А.А.
Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз,
111226, Таш. обл., Кибрайский р-он, п/о Юкори-Юз, Узбекистан
E-mail: zumrad_60@mail.ru

В Институте генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз имеется генофонд хлопчатника, насчитывающий около 4500 образцов *G.hirsutum L*. из всего более 7тыс. образцов, являющийся бесценным богатством для селекции и агропромышленного комплекса в целом. Эффективное использование генофонда хлопчатника зависит от масштаба и глубины оценки его качества, со стратегическими задачами хлопководства и уровнем организации и эффективности селекционного процесса. Исследование физиолого-биохимических и других показателей позволять паспортизировать коллекционные образцы для эффективного использования в селекции в качестве источников с важнейшими хозяйственно-ценными признаками.

Проведены исследования по изучению электрофоретического состава белков и масличности семян 150 образцов гермоплазмы хлопчатника вида *G.hirsutum L.* По составу белковых маркеров все образцы были одинаковыми и содержали одновременно два белковых компонента Н-0,13 и В-0,18. Посеменной анализ этих образцов (до 30 семян) подтвердил их однородность, что свидетельствует о длительном хранении семян, в результате чего белок Н-0,13 медленно превращается в белок В-0,18. Показано, что ряд изученных образцов являются гетерогенными по составу буферорастворимых белков.

Изученные в настоящей работе 150 образцов гермоплазмы являются представителями 9 стран мира: Болгария, Индия, Китай, Морокко, Мексика, США, Пакистан, Турция, Украина. Среднее значение масличности образцов этих стран близки к друг другу. Масличность изученных образцов колеблется в широких пределах – от 15,1 до 25%. Большинство сортов характеризуется среднем содержанием масла в пределах 18-23%.

ABOUT COMPOUND OF PROTEIN MARKERS AND OIL CONTENT OF SEVERAL VARIETIES OF COTTON PLANT GERMPLASM

Abdurazakova Z.L., Abdurazakov A.A.
Institute of Genetics and Plant Experimental Biology of As of RUz.
702151, Yukori –yz, Kibray district, Tashkent region, Uzbekistan.
E-mail: zumrad_60@mailru

In the Institute of Genetics and Plant Experimental Biology of AS RUz has cotton plant genefund, numbers about 4500 samples of *G.hirsutum L*. From total more than 7000 samples which are invaluable fortune for breeding and agroproduction complexes in the whole. Effective using of cotton gene fund depends on scale and detailed estimation its quality, with strategic tasks of cotton crop growing and organization degree and efficiency of breeding processes. Investigation of physio-biochemical and other parameters allows for passportize of collection samples for efficient usage in breeding as a sources with important economical-valuable traits.

In this research work conducted investigation on studying of electrophoresis content of proteins and oil content of 150 samples of cotton plant germplasm species *G.hirsutum L.*

On electrophoresis content of the seed water-soluble proteins of investigated cotton plant samples in general terms were close to each other. On contents of protein markers of all samples were the same and consisted at the same time two protein H-0,13 and B-0,18. By seed analyses of these samples (up to 30 seeds) approved their homogeneity, that indicates about long time storing of the seed, in the result protein H-0,13 slowly converted to protein B-0,18. Showed, that several studied samples are heterogeneous on content of buffer-soluble proteins.

Studied germplasm of 150 samples in this work are represents 9 countries of the world: Bulgaria, India, Chine, Morocco, Mexico, USA, Pakistan, Turkey, Ukraine. Average value of the oil content of the samples of these countries close to each other.

Oil content of the studied samples changes on a broad scale – from 15,1 up to 25%. Majority varieties characterize by average content of oil in the scale 18-23%.

СИСТЕМА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СИНТЕЗА СТЕРИНОВ У КАРТОФЕЛЯ

Андреева Е.А., Сухоруков В.Н., Лутова Л.А.
Санкт-Петербургский государственный университет,
кафедра генетики и биотехнологии,
199034, г. Санкт-Петербург, Университетская наб., 7/9

Стерины выполняют в организме крайне важные функции: структурные, как компоненты цитоплазматических мембран, регуляторные, поскольку непосредственно сами и как предшественники брассиностероидов, контролируют развитие организма. Кроме того, стерины участвуют в процессах взаимодействия растений с патогенными организмами, во-первых, как предшественники для синтеза антимикробных веществ (например, стероидные алкалоиды паслёновых), и, во-вторых, как вещества необходимые для роста и развития патогенов. Состав стеринов, таким образом, может рассматриваться как важная характеристика растения. Состав стеринов определяется работой большого числа ферментов пути биосинтеза. Оценивая количество ферментов можно выявлять формы растений, предположительно характеризующиеся измененным составом стеринов. Одним из вариантов определения количества ферментов является анализ уровня наработки соответствующих мРНК. На уровне мРНК оценку можно проводить с помощью количественной ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) на матрице кДНК.

Поскольку геном картофеля секвенирован лишь частично, последовательности праймеров и зондов были подобраны на основе выравнивания нуклеотидных последовательностей генов синтеза стеринов других видов растений, имеющихся в базе данных NCBI. Нами разработаны системы для оценки экспрессии генов синтеза стеринов *Smt1, Smt2*–стеролметилтрансферазы1 и 2, *Dwf1*–24 метиленхолестеролредуктазы и *Hyd1* – C8,7-стеролизомеразы методом ПЦР-РВ, модификация TaqMan.

Работа выполнена с использованием оборудования ресурсного центра СПбГУ «Развитие молекулярных и клеточных технологий».

SYSTEM FOR DETECTION OF POTATO STEROL GENES EXPRESSION LEVEL

Andreeva E.A., Sukhorukov V.N., Lutova L.A.
Saint-Petersburg State University, Dept. of Genetics and Biotechnology,
University emb., Saint-Petersburg, Russia, 199034

Sterols perform very important functions in organism: structural as a component of cytoplasmic membranes and regulatory – by itself and as a precursor for brassinosteroids synthesis. Moreover, sterols are involved in plant-pathogen interactions as a source for synthesis of substances possessed antimicrobial activity (f.e., steroid alkaloids of Solanaceae) and as components which are extremely necessary for pathogen growth and development. Thereby, sterol content is a very important characteristic of plants. Sterol content is dependent on work of many sterol biosynthesis enzymes. Estimation of enzymes quantity allows to define plants with altered sterol content. One of the possible methods is to analyze the level of corresponding mRNAs by quantitative reverse transcription real-time PCR. Potato genome is not sequenced fully, so, primers and probes for real-time PCR were defined accordingly to alignment of other plant species nucleotide sequences from NCBI database. Systems for quantitative analysis of *Smt1*, *Smt2* (sterol methyltransferases 1 and 2), *Dwf1* (24-methylene cholesterol reductase) and *Hyd1* (C8.7-sterol isomerase) genes were developed.

This work was partially carried out in the resource center for St. Petersburg State University "The development of molecular and cellular technologies".

ВЫДЕЛЕНИЕ НОВЫХ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ ШТАММОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Баймаханова Г.Б., Ораз Г.
Казахский национальный университет им. Аль-Фараби,
050010 г. Алматы ул. Богенбай батыра, 103

Многие виды цианобактерий способны к усвоению молекулярного азота воздуха. Наличие фотосинтеза и способности к азотфиксации делают их наиболее совершенными автотрофами в мире организмов. Цианобактерии обладают громадной экологической валентностью, которая во многом определяется их способностью вступать во временные и более прочные связи с самой разнообразной микрофлорой.

В настоящее время становится ясной положительная экологическая роль цианобактерий в почве в качестве азотфиксаторов, накопителя органического вещества, центров микрокосмов как автотрофных организмов, с удивительными способностями симбиотрофным взаимоотношениям.

Роль цианобактерий в обеспечении почвы азотом часто недооценивается. Считают, что прибыль азота в почве в большинстве случаев является результатом собирательной деятельности гетеротрофных микроорганизмов, фиксирующие небольшие количества азота. Цианобактерии

участвуют в этом процессе не только как фиксаторы азота, но и как стимуляторы азотфиксирующих гетеротрофных микроорганизмов. Исследования ряда авторов показали, что развитие цианобактерий всегда сопровождается повышением микробиологической активности почвы. Активизируя деятельность гетеротрофных азотфиксаторов, они принимают участие в обогащении почвы азотом и, следовательно, влияют на азотный режим почвы и ее плодородия.

Целью данного исследования являлось выделение новых азотфиксирующих штаммов цианобактерий из различных экосистем.

Альгофлора рисовых полей Кызылордынский области до сего времени не изучалась. Перед нами стояли следующие задачи: исследовать видовой состав водорослей, динамику их развития.

ISOLATION OF NEW NITROGEN-FIXING STRAINS OF CYANOBACTERIA

Baimakhanova G.B., Oraz G.
Al-Farabi Kazakh National Univeristy,
050010, 103 Bogenbai Batyr st, Almaty, Kazakhstan

Many species of cyanobacteria are able to assimilate molecular nitrogen in the air. The presence of photosynthesis and nitrogen fixation ability make them the most perfect in the world of autotrophic organisms. Cyanobacteria have a huge ecological valence, which is largely determined by their ability to enter into time and a stronger relationship with the most diverse flora.

Ecological role of cyanobacteria in the soil as nitrogen-fixing bacteria, organic matter storage, centers microcosms as autotrophic organisms with amazing abilities symbiotrophic relationship is now becoming clear positive.

The role of cyanobacteria in providing soil with nitrogen is often underestimated. It is believed that the profits of nitrogen in the soil in most cases is the result of a collective activity of heterotrophic microorganisms that hold small amounts of nitrogen. Cyanobacteria are involved in this process, not only as retainers of nitrogen, but also as promoters of nitrogen-fixing heterotrophic microorganisms. Studies by a number of authors have shown that the development of cyanobacteria is always accompanied by an increased microbial activity in the soil. By activating activity of heterotrophic nitrogen-fixing bacteria, they take part in enriching the soil with nitrogen and, therefore, affect the nitrogen regime of soil and its fertility.

The purpose of this study was the selection of new strains of nitrogen-fixing cyanobacteria of the different ecosystems.

Algae diversity of rice fields of Kyzylorda region has so far not been studied. We had the following objectives: to study the species composition of algae, the dynamics of their development.

The morphological, cultural, physiological and biochemical properties of the isolated strains of cyanobacteria were studied, 13 species and varieties of algae and cyanobacteria of various ecosystems including – Euglena – 1, Green – 2, cyanobacteria – 5, diatoms – 5 were identified. Thus we are working on the properties of the most valuable strains of nitrogen-fixing cyanobacteria.

PHYLOGENETIC RELATIONSHIP OF *COCHLODINIUM POLYKRIKOIDES* USING 18S RIBOSOMAL RNA GENE SEQUENCES FROM PERSIAN GULF

Raheem Haddad , Esmat Alemzadeh, Ramin Hosseini, Alireza Ahmadi, Eesa Abdolaliyan
Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad, E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

The mixotrophic dinoflagellate Cochlodinium polykrikoides (C. polykrikoides) is a causative agent of the recurring harmful algal blooms (HABs) observed in the southern coastal waters of Iran. The C. polykrikoides bloom and its associated fish kills have also been reported in other countries such as the US, South Korea, Philippines, China and Japan. C. polykrikoides is an unarmoured, marine, planktonic dinoflagellate species with a distinctive spiral-shaped cingulum. It has many possible ichthyotoxic properties. This is a red tide species and can cause fish mortality by rapidly using up nutrients in an area. In this study, the sequence of 18S rDNA was analyzed using sample of C. polykrikoides of Persian Gulf, and then, the phylogenetic relationship was drown for C. polykrikoides compare to the other C. polykrikoides recorded on the NCBI GenBank. Phylogenic relationship illustrated a high degree of identity 93.69-100% for C. polykrikoides at the nucleotide level. The results exhibited the maximum likelihood phylogenetic similarity of Iranian species to the C. polykrikoides of South Korea, while the highest levels of differences belong to the American one. This hypothesis confirm that C. polykrikoides is from non-native species of the Persian Gulf and might be concluded that this species likely had reached into coastal waters of Oman sea and the Persian Gulf with balance water discharged of vessels and at comfortable conditions.

EFFECT OF POLYETHYLENE GLYCOL INDUCED WATER STRESS ON HULL-LESS BARLEY LINES (*HORDEUM VULGARE* L.)

Raheem Haddad and Soghra Asgari Avini
Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University, Qazvin,IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad, E-mail: raheemhaddad@yahoo.co.uk;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

Barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes have been classified as hull-less and hulled barley. Hull-less barley (*Hordeum vulgar* subsp. Vulgar) cultivars have better nutritional value than hulled ones as they contain more proteins, lipids, and soluble dietary fibers. Hull-less barley is tolerant to abiotic stresses. current estimates indicate that 25% of the world's agricultural lands is now affected by water stress. Iran, with an annual 240 mm of rainfall, is classified as a dry region of the world. Water stress acts by decreasing the percentage and rate of germination and seedling growth. Therefore, plants that use water more efficiently can produce higher yields in dry conditions. However, depending upon plant species, certain stages such as germination, seedling or flowering were the most critical stages susceptible to water stress. In order to study the effect of drought stress on germination in two lines of Hull-less barley (EHD-85-8 and EH-85-19) four concentrations of PEG 6000 (0, -6, -9 and -12 bar) were used. The experiment was conducted as a completely randomized design with three replications of seed technology. In this study, Percentage and rate of germination, root and plumule length were determined. Results indicated the significant differences among cultivars and drought stress levels. Percentage and rate of germination and plumule length of all species were decreased by increase in PEG concentration. It seems that the length of plumule is more sensitive than in radical to drought

stress. In -9 bar, EHD-85-8 line had the longest length of radical with 2.43 mm, while EH-85-19 line had shortest radical length. EHD-85-8 line had the longest length of plumule, highest germination rate and percentage. increasing in PEG concentration to -12 bar ceased the Percentage and rate of germination, plumule and radical length of EH-85-19 lines. Based on the results, the EHD-85-8 line showed higher tolerance to drought stress.

Keyword: Hull-less barley- PEG- germination- seedling- drought stress

INCREASING TOLERANCE AGAINST DROUGHT STRESS IN TWO GENOTYPES OF RICE BY SILICON

Raheem Haddad, Fatemeh Biglary, Ramin Hosseini, Abbas Sotoodehnia
Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad, E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

Drought is one of the major environmental stresses plants affecting plants in the world. Silicon is one of the abundant elements in soil and numerous studies have demonstrated that silicon elevates tolerance of plants against environmental stresses. In the present study, effects of sodium silicate were investigated to analyze drought induced oxidative stress on antioxidant enzymes superoxide dismutase and peroxidase in two rice (Oryza sativa L.) cultivars as semi-tolerant and sensitive. A factorial experiment was performed in a completely randomized design with three treatments in three replications in a green-house. Antioxidant enzymes were produced against reactive oxygen species induced by drought stress and changing of enzymes activity occurred in response to stress to protect plant tissues against oxidative stress. In the samples treated with silicon, amount of relative water content decreased, compare to drought stress condition. Superoxide dismutase and peroxidase activity increased in drought silicon treated plants. Silicon is beneficial for mostly higher plants, especially under stressful environment, although it is not considered to be required by higher plants. The results of the present study illustrated that silicon might be caused to increase tolerance in both varieties due to elevation of such enzymatic activities in response to drought stress. Such treatment affects plant tolerance, and therefore, could be suggested to use silicon as external nutrition to achieve higher level of plant production.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНТРОГРЕССИИ ЧУЖЕРОДНЫХ ГЕНОВ В СЕЛЕКЦИИ САХАРНОЙ СВЁКЛЫ (*BETA VULGARIS L.*)

Богомолов М.А.
ГНУ Всероссийский НИИ сахарной свёклы им. А.Л. Мазлумова Россельхозакадемии,
396030 Воронежская область, Рамонский р-н, п. ВНИИСС, 86

В результате проведения опылений диплоидных МС-растений сахарной свёклы пыльцой тетраплоидной дикой свёклы B.corolliflora Z. и пыльцой гексаплоидного вида дикой свёклы B.trigyna W.et K., облучённой высокими дозами гамма-радиации нами были получены гамма-линии с апомиктическим способом семенной репродукции. Установлено, что ионизирующие излучения, действуя на генеративные органы растений, вызывают апомиктическое развитие семян (Сухарева, 1985; Батурин, 2004). Принцип таких воздействий заключается в побуждении яйцеклетки к развитию опылением пыльцевыми зёрнами, имеющими функционально неполноценные спермии, повреждённые высокими дозами гамма-радиации. Было установлено, что об-

лучённая радиацией пыльца блокирует нормальное оплодотворение и стимулирует яйцеклетку к апомиктическому размножению. У полученных нами апомиктичных линий сахарной свёклы были выявлены некоторые отклонения от нормы, выражающиеся в нарушении или отсутствии процесса мейоза: у 38,7% зародышей наблюдалось замедление и нарушение в развитии, тогда как остальные развивались нормально, не отличаясь от амфимиктичных (Фоменко, Богомолов и др., 2003).

Среди множества созданных нами линий хотелось бы отметить стерильные линии Y-MC-2113-AP, Y-MC-70-AP и Y-MC-94-AP, а также самофертильную линию Y-РФ-70 AP. Эти уникальные линии вот уже в течение многих поколений формируют жизнеспособное потомство в условиях строгой изоляции. На основе апомиктичных линий впервые были созданы высокопродуктивные гибриды сахарной свёклы: РМС-90, СУПЕРАГРО и ВИТЯЗЬ, превысившие стандарт (РМС-70) по урожайности корнеплодов на 15-25%, сахаристости на 1-2% и сбору сахара на 27-29%.

USE OF ALIEN GENE INTROGRESSION IN SUGAR BEET (*BETA VULGARIS L.*) BREEDING

Bogomolov M.A.
State Research Organization "The A.L.Mazlumov
All-Russian Research Institute of Sugar Beet"
of Russian Agricultural Academy,
396030, Voronezh region, Ramonsky district, 86, VNIISS

As a result of pollination of sugar beet diploid MS-plants by pollen of tetraploid wild beet B.corolliflora Z. and of a hexaploid wild beet species, B.trigyna W.et K., both irradiated by high doses of gamma-radiation, we have obtained gamma-lines with apomictic way of seed reproduction. It has been determined that ionizing radiation cause apomictic seed development by influencing generative organs of plants (Suhareva, 1985; Baturin, 2004). Principle of such influences is to induce an ovule to develop using pollination by pollen grains that have functionally defective spermatozoons damaged by high doses of gamma-radiation. It has been determined that irradiated pollen suppresses normal fertilization and stimulates apomictic reproduction in ovule. In the sugar beet apomictic lines produced by us, some abnormalities, expressed as incorrect meiosis process or its absence, were detected: slow and incorrect development was observed in 38.7% of embryos, while the rest developed normally, not differing from amphimictic ones (Fomenko, Bogomolov et al., 2003).

Among many lines we have developed, the following should be noted: sterile lines Y-MS-2113-AP, Y-MS-70-AP and Y-MS-94-AP, and self-fertile line Y-SF-70-AP. These unique lines have been producing viable progeny for many generations already under complete isolation conditions. On the basis of apomictic lines, highly productive sugar beet hybrids were developed for the first time: RMS-90, SUPERAGRO and VITYAZ that exceed the standard (RMS-70) in root yield by 15-25%, in sugar content by 1-2% and in sugar yield by 27-29%.

НОВАЯ МИКРОБНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ ХЛОПЧАТНИКА НА ЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВАХ

Джуманиязова Г.И., Нарбаева Х.С., Бабина А.Е., Зарипов Р.Н.
Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан,
г. Ташкент. ул.А. Кадыри. д. 7б

В лаборатории почвенной микробиологии Института создана новая микробная биотехнология возделывания хлопчатника на засоленных почвах. Технология основана на совместном применении 2-х микробных биопрепаратов. Для предпосевной обработки семян хлопчатника применяется новый биопрепарат комплексного действия Rizokom-1. В его состав входят 5 штаммов солеустойчивых ризобактерий хлопчатника р. Bacillus, обладающих полифункциональными свойствами – фосформобилизация, засухоустойчивость, антагонистическая, ростстимулирующая, корнеобразующая способность и способность к деструкции стойких хлорорганических пестицидов – ГХЦГ и ПХБ. Расход биопрепарата 30-50 мл/га. Для внекорневой подкормки растений создан новый биопрепарат Serhosil, действующим началом которого является ассоциация 3-х местных штаммов зеленых микроводорослей р. Scenedesmus. Биопрепарат применяется путем опрыскивания растений хлопчатника по фазам вегетации в количестве 600-800 л/га. Применение Rizokom-1 и Serhosil на засоленных почвах Сырдарьинской области повысило содержание полезного микробного сообщества в ризосфере хлопчатника на 1-2 порядка. В результате наладился круговорот основных биогенных элементов – азота, фосфора и калия, что способствовало формированию мощной корневой системы. Содержание гумуса в пахотном слое увеличилось на 0,31% по сравнению с контролем (с 0,98% до 1,29%). Содержание подвижного азота в засоленной почве увеличилось на 3,7 мг/кг, подвижного фосфора на 6,4 мг/кг, подвижного калия – на 16-65 мг/кг по сравнению с контролем. Содержание токсичных солей уменьшалось в среднем за вегетацию: NaCl – на 0,12-0,18%; Na_2SO_4 - на 0,07-0,17% ; $MgSO_4$ – на 0,17-0,23%. pH почвы снизился 8,7 до 7,9-7,6. Хлопчатник не заболевал корневой гнилью, вилтом и гоммозом. Прибавка урожая с высоким качеством волокна составила 7 ц/га.

NEW MICROBIAL BIOTECHNOLOGY INCREASING PRODUCTIVITY OF COTTON ON SALINE SOIL

Djumaniyazova G.I., Narbaeva Ch.S, Babina A.E., Zaripov R.N.
Institute of Microbiology, Academy of Sciences of Uzbekistan,
Tashkent. st.A. Kadiri, 7b

In the laboratory of Soil Microbiology of the Institute, a new microbial biotechnology cotton cultivation in saline soils created. The technology is based on the combined application of 2-microbial biopreparation. For pre-treatment of cotton seeds using a new biological biopreparation of complex action Rizokom-1. It consists of five strains of salt-tolerant cotton rhizobacteria g. Bacillus, having multifunctional properties –phosphor mobilizatioin, drought, antagonistic, growth promotion, root formation, ability and capacity for destruction of persistent chloroorganic pesticides – HCH and PCBs. Expenditure biopreparation 30-50 ml/ha. For foliar application feeding plants, a new biological biopreparation Serhosil created, the active principle of which is the association of 3 local strains of green microalgae p. Scenedesmus. The biological biopreparation is applied by spraying the cotton plants in phases of vegetation in the amount of 600-800 l/ha. Application Rizokom-1 and Serhosil on saline soils Syrdarya area increased content of useful microbial communities in the rhizosphere of cotton by 1-2 orders of magnitude. As a result, the cycle will adjust the main nutrients – nitrogen, phosphorus and potassium, which contributed to the formation of a strong root system. Humus content in

the plow layer has increased by 0.31% compared with the control (from 0.98% to 1.29%). The content of available nitrogen in saline soil increased by 3.7 mg/kg, phosphorus of 6.4 mg/kg, available potassium – at 16-65 mg/kg compared with the control. The content of toxic salts decreased on average during the growing season: NaCl – to 0.12-0,18%, Na_2SO_4 - to 0,07-0,17%, $MgSO_4$ - to 0.17-0.23%. Soil pH decreased 8.7 to 7.9-7.6. Cotton is not ill root rot, wilt and bacterial blight. Yield increase with high quality fiber was 7 kg/ha.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЛЕУСТОЙЧИВЫХ РИЗОБАКТЕРИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ

Джуманиязова Г.И., Нарбаева Х.С., Бабина А.Е., Закирьяева С.И.,Каландаров Т.
Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан,
г. Ташкент. ул.А. Кадыри. д. 7б

На засоленных почвах озимая пшеница в течение вегетации подвергается одновременно нескольким стрессовым факторам: солевой стресс, температурный стресс, водный дефицит, водный стресс (переувлажнение почв), зимняя засуха, пестицидный стресс, стресс при нарушении технологии применения удобрений и баланса питательных элементов. Вырастить высокий и качественный урожай пшеницы в таких условиях практически невозможно. С целью устранения негативного влияния стрессовых факторов мы изучали свойства выделенных нами ризобактерий пшеницы р. Bacillus, предназначенных для предпосевной обработки семян. Выявлена устойчивость 4-х штаммов ризобактерий к высоким концентрациям сульфатных (Na_2SO_4 и $MgSO_4$) и хлоридных (NaCl и $MgCl_2$) токсичных солей – до 10-20% (титр клеток составлял 10^{10} -10^{11}кое/мл, титр спор от 10^6 -10^9кое/мл на 3 сутки культивирования). Изучение физиологической активности солеустойчивых ризобактерий пшеницы выявило, что ассоциация ризобактерий активнее растворяет трикальцийфосфат (0,97 мг P_2O_5/мл) и минерализует фитин (0,80 мг P_2O_5/мл). Определена способность солеустойчивых ризобактерий ингибировать рост фитопатогенных грибов Fusarium oxysporum, Fusarium solani, Fusarium moniliforme, Fusarium solani var. argillaccum, вызывающих корневую гниль и увядание озимой пшеницы. Изучена ростстимулирующая и корнеобразующая активность ризобактерий пшеницы на засоленных почвах в лабораторном опыте. Выявлено, что инокуляция семян ризобактериями активирует процесс прорастания семян и последующий начальный рост проростков пшеницы на солевом фоне, то есть способствует снятию солевого стресса. Лабораторная всхожесть семян озимой пшеницы повышалась на 40-50%, высота 25 дневных проростков на 3,7- 4 см, длина корней – на 3,8 см, средний вес 1 корня 25 дневного проростка увеличился на 0,03 г, средний вес 1 стебля на 0,05 г на засоленной почве.

PHYSIOLOGICAL ACTIVITY SALT TOLERANT RHIZOBACTERIA WINTER WHEAT

Djumaniyazova G.I., Narbaeva Ch.S, Babina A.E., Zakiryaeva S.I., Kalandarov T.
Institute of Microbiology, Academy of Sciences of Uzbekistan,
Tashkent. st.A. Kadiri, 7b

On saline soils of winter wheat during vegetation exposed to multiple stressors: salt stress, temperature stress, water scarcity, water stress (soil moisture), winter drought, pesticide stress, stress at improperly fertilizer and balance of nutrients. Grow high quality and yield of wheat in such conditions is almost impossible. In order to eliminate the negative impact of stress factors, we studied the properties of selected rhizobacteria wheat g. Bacillus, designed for pre-treatment of seeds. Finds a

consistent 4-rhizobacteria strains to high concentrations of sulfate (Na_2SO_4 and $MgSO_4$) and chloride (NaCl and $MgCl_2$) toxic salt – up to 10-20% (titer -10^{11}cfu/ml cells is 10^{10}, the title dispute between 10^6 -10^9 cfu/ml on day 3 of cultivation). The study of the physiological activity of salt-tolerant wheat rhizobacteria showed that the association of rhizobacteria actively dissolve three calcium phosphate (0.97 mg P_2O_5/ml) and mineralizes phytin (0.80 mg P_2O_5/ml). Determined by the ability to inhibit the growth of salt-tolerant rhizobacteria pathogenic fungi Fusarium oxysporum, Fusarium solani, Fusarium moniliforme, Fusarium solani var. argillaccum, causing root rot and decay of winter wheat. Studied and growth promotion and root formation activity rhizobacteria of wheat in saline soils in the laboratory conditions. Revealed that seed inoculation of rhizobacteria activates the germination and subsequent initial growth of wheat seedlings to salt background, that is salt helps relieve stress. Laboratory germination of winter wheat increased by 40-50%, height 25 day-old seedlings of 3.7 - 4 cm, root length – 3.8 cm, the mean weight of 1 root 25 day-old seedlings grown at 0.03 g, the average weight of 1 stem at 0.05 g in saline soil.

STUDY THE EFFECT OF THE PEG (6000) PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO BARLEY (*HORDEUM DISTICUM*) ADVANCED LINES UNDER DROUGHT STRESS

Raheem Haddad and Masume Ghadami
Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad, E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

Drought is one of the major environmental stresses affecting plants in the world. Such stresses damage plants and decrease their yield, especially in cereals. Since the cereals play an important role in the human nutrition, role of drought should be noticed. To study the effect of polyethylene glycol (PEG) stress on germination and early seedling stages on two genotypes of barley at *in vitro* conditions. Germination of seedling is the most critical phases of plant life that is greatly influenced by drought. Barley is often the most important rainfed crop that farmers can grow, and is often subjected to extreme water deficit during the dry season especially in germination stage. The purpose of this paper was, to evaluate the effects of the drought stress conditions that three levels of polyethylene glycol (0, -6 and -9 Mpa) were used on two barley genotypes (20340, 20213). The experiment was conducted in completely randomize design (CRD) with five replications. Some of relevant characterizations such as morphological parameters of root, shoot length and dry weight were studied. The results showed that drought stress can significantly decrease the roots and shoots length and dry weight of barley plants. The 20340 genotype had the highest level of tolerance than 20213 genotype. Therefore, 20340 genotype might be accounted more resistant than 20213 genotype under drought stress conditions.

Key words: Two- rows barley, Early seedling stage, Germination, drought stress.

SOME TERPENOID COMPOUNDS OF DIFFERENT PARTS OF *CUMINUM CYMINUM* L

Raheem Haddad[1], **Maryam Ghannadnia**[1], **Fatemeh Zarinkamar**[2], **Mozafar Sharifi**[2]
[1]*Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Engineering & Technology, Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran.*
[2]*Faculty of Biological Sciences,Tarbiat Modarres University,Tehran, IR of Iran.*
For correspondence: Raheem Haddad, E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

Cuminum cyminum is an annual plant of the family Apiaceae. The fruits of *C. cyminum* are used as a traditional flavouring in a number of ethnic cuisines and food industries. Reductions of blood glucose, plasma and tissue cholesterol, phospholipids, free fatty acids and triglycerides by cumin have been demonstrated. Cuminaldehyde, α-pinene, γ-terpinene, p-mentha- 1, 3 -dien-7-al, p-mentha-1,4-dien-7-al and p-cymene have been usually reported as main constituents of cumin. Although the chemical composition of cumin seed essential oil has been studied by a number of researchers, there have been few reports on cumin separated organs terpenoid compounds. In this study, the results of GC and GC/MS analysis from different organs of cumin volatile compounds showed the presence of five monoterpene compounds including α-pinene, β-pinene, α-phellandrene, m-cymene and γ-terpinene. The flowers and shoots were rich in all of the terpenoids except for higher concentration in the flowers. α-phellandrene was the only combination in the leaves and there were no α-pinene and β-pinene in the roots. Although in the previous molecular investigation, terpene (limonene) synthase gene expression was observed only in cumin shoot and flowers, this investigation has shown that all of different organs of cumin contained comparable percentages of terpenoid compounds. Further works should be focused on the relation between rate of the identified compounds and their expression genes.

Keywords: *Cuminum cyminum*, organs, terpenoids, GC/MS.

LIMONENE SYNTHASE GENE EXPRESSION ON DIFFERENT PARTS OF *CUMINUM CYMINUM* L

Raheem Haddad[1], **Maryam Ghannadnia**[1], **Fatemeh Zarinkamar**[2], **Mozafar Sharifi**[2]
[1]*Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Engineering & Technology, Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran.*
[2]*Faculty of Biological Sciences,Tarbiat Modarres University,Tehran, IR of Iran.*
For correspondence: Raheem Haddad, E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

In spite of the significance of medicinal and aromatic herbs, very little is known about the genetics of their secondary metabolism, as the genes of most pathways have not been identified and little is understood of their regulation and function. *Cuminum cyminum* L. is valued for its aroma, medicinal and therapeutic properties. The synthesis of limonene, in providing the first committed intermediate of the pathway, represents a possible rate-limiting step of monoterpenes production. The results of this investigation revealed that limonene synthase (LS) gene expresses in the shoots and flowers of the plants with the gradual reduction during flowers development. Partial sequence of cumin Limonene synthase gene was registered at GenBank accession number JN388566. No expression of the gene was observed in the leaves and roots. Although cumin flowers (fruits) have been identified as main storage organs of terpenoids, the results of this study revealed the highest gene expression in the shoots.

EVALUATION OF PRETREATMENT POLYETHYLENE GLYCOL IN TWO DEVELOPMENT LINES OF DURUM WHEAT UNDER DROUGHT STRESS

Zahra Karimlou, Raheem Haddad, Abdolali Gaffari
Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad, E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

Durum wheat (*Triticum turgidum*) or pasta wheat compared with common bread wheat (*Triticum aestivum*) is known for its hardness, protein, intense yellow color, nutty flavor and excellent cooking qualities. Its density, combined with its high protein content and gluten strength, make durum the wheat of choice for producing premium pasta products. Seedling emergence is one of the stages of growth that is sensitive to water deficit. PEG (6000) is a high molecular weight polymer of ethylene oxide and is a blend of polymers with different degrees of polymerization PEG (6000) is readily soluble in water and used for induction the condition of drought stress This research was performed as a completely randomized design (CRD) with three replications Two lines of durum wheat (Stj3/bcr/iks4/3ner-3:resistant line and Saji: sensitive line) were test for drought tolerance and three various of osmotic potentials(0, -6 & -12 Mpa) to cause different level of osmotic pressure were used. Some of the relevant characters, including of root & shoot length, germination rate index (GRI), median germination time (MGT). Germination stress index (GSI) and plumule length were measured. Results indicated a significant reduction in all above traits but increased median germination time, while Stj3//bcr/iks4/3ner-3 had the highest tolerance against the drought stress.

Keywords: durum wheat, drought stress, PEG (6000) and osmotic stress.

ИСЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ПАРАМЕТРОВ АГРОНОМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЛОДОРОДИЯ ЗАСОЛЕННОЙ ПОЧВЫ ПОД КУЛЬТУРОЙ РИСА

Идрисова У.Р.[1], Мусалдинов Т.Б.[1], Идрисова Д.Ж.[1], Айткельдиева С.А.[2], Байгонусова Ж.А.[2], Аипова Р[2]., Ауэзова О.Н.[2], Курманбаев А.А.[2], Мырзадаулетова И.Т.[1], Саданов А.К.[2]
[1]*Товарищество с ограниченной ответственностью «Таза Су»,*
Республика Казахстан, 050063,г. Алматы, ул. Саина, 95А
[2]*РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК,*
Республика Казахстан, 050010,г. Алматы, ул. Богенбай батыра, 103

Проблема снижения почвенного плодородия рисовых полей в Казахстане остается актуальной, при этом в условиях длительной монокультуры происходят потери органического вещества, повсеместное ухудшение агрофизических свойств и вторичное засоление почв. В целях восстановления плодородия засоленных почв проведены мелкоделяночные опыты в условиях стационарного участка «Караултобе» Казахского научно-исследовательного института рисоводства им. Ы. Жакаева Кызылординской области по установлению влияния цеолитно- органоминеральных удобрений (цеолит, биогумус, минеральные удобрения NPK), ассоциаций бактерий, биовермикомпостов на продуктивность риса. Использование комплексного цеолитного органоминерального удобрения способствует повышению численности микроорганизмов в ризосфере риса, а также активности ключевых ферментов энергетического азотного метаболизма риса и содержания хлорофиллов а и в и амилозы в зерне риса. Внесение цеолита в дозе 2,5 т/га совместно с биогумусом – 4 т/га и с консорциумом агрономических ценных бактерий улучшает структуру почвы и биодоступность элементов питания для растения риса. В вегета-

ционных опытах установлено, что при внесении минеральных и органических удобрений на фоне цеолита происходит улучшение гумусного состояния почвы, что отражается в повышении активности ферментов полифенолоксидазы и пероксидазы, а также продуктивности риса. Наибольшая величина условного коэффицента гумификации отмечена в варианте опыта с биовермикомпостом и цеолитом.

RESEARCH OF BIOLOGICAL ACTIVITY AND PARAMETERS OF AGRONOMIC CHARACTERISTICS OF SALINE SOIL FERTILITY UNDER RICE CROP

Idrisova U.R.[1], Musaldinov T.B.[1], Idrisova D.Zh.., Aytkeldieva S.A.[2], Baygonusova Zh.A[2], Aipova R[2], Auezova O.N.[2], Kurmanbaev A.A.[2], Myrzadauletova I.T.[1], Sadanov A.K.[2]
[1]*Limited Liability Partnership "Taza-Su", Republic of Kazakhstan, 050063, Almaty, 95A Sain str.*
[2]*RSOE "Institute of Microbiology and Virology", Committee of Science, Ministry of Education and Science, KN RK, Republic of Kazakhstan, 050010, Almaty, 103 Bogenbai batyr str.*

The problem of reducing the soil fertility of rice fields in Kazakhstan remains topical, meanwhile under conditions of long-term monoculture the losses of organic matter, widespread deterioration of agrophysical properties, and secondary salinization of soils take place. In order to restore the fertility of saline soils small plot experiments were conducted in the conditions of the stationary sector "Karaultobe" of the I. Zhakaev Kazakh Research Institute of Rice Growing, Kyzylorda region, to establish the influence of zeolite-organomineral fertilizers (zeolite, biohumus, NPK mineral fertilizers), associations of bacteria, bio-vermicompost on the rice productivity. An integrated zeolite organomineral fertilizer improves the number of microorganisms in the rice rhizosphere, and activity of key enzymes of energy nitrogen metabolism and content of a and b chlorophyll and amylose in the rice grain. Adding zeolite in the dose of 2.5 t/ha simultaneously with biohumus of 4 t/ha with a consortium of agronomic valuable bacteria improves the soil structure and bioavailability of nutrients for the rice plants. In the vegetation experiments it was established that adding mineral and organic fertilizers on the zeolite background improves the soil humus condition, as reflected in the increase in the activity of polyphenol oxidase and peroxidase, as well as rice productivity. The largest value of a conditional humification factor was observed in the experiment variant with bio-vermicompost and zeolite.

ПОЛУЧЕНИЕ КУЛЬТУР РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ МИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИХ ВЛИЯНИЯ НА РОСТ РАСТЕНИЙ

Касымбеков Б.К., Фалеев Д.Г., Джокебаева С.А., Ташенова А.А., Оразова С.Б.
НИИ проблем экологии Казахский национальный университет им. аль-Фараби, 050078, Республика Казахстан г. Алматы пр. Аль-Фараби, 71, корпус №6

Интенсификация использования природных ресурсов и экстенсивные технологии земледелия привели к загрязнению токсическими отходами, деградации, опустыниванию и засолению больше половины земель в республике. В таких условиях возделываемые сельскохозяйственные культуры в большинстве своем имеют низкую продуктивность и характеризуются слабой устойчивостью к действию абиогенных и биогенных факторов. Одним из способов восстановления плодородия почвы является использование микоризы. Арбускулярная микориза повышает устойчивость растений к неблагоприятным факторам окружающей среды и улучшает структуру почвы.

Из почвенных образцов, отобранных в предгорной зоне юго-востока Казахстана нами выделены споры микоризных грибов методом влажного просеивания. В отобранных образцах почв содержание спор колебалось в пределах 27-658 на 100 г сухой почвы. Основную массу извлеченных спор составили хламидоспоры, характерные для эндомикоризных грибов рода *Glomus*. Методом получения моноспорических культур арбускулярно-микоризных грибов выделено достаточное количество спор нескольких представителей рода *Glomus*. Изучалось влияние инокуляции почвы спорами штаммов (Gl_1-Gl_6) арбускулярно-микоризных грибов на рост горшечных растений кукурузы и фасоли. Установлено, что выделенные культуры различаются по степени инфекционности и влиянию на рост использованных растений. Установлено, что внесение инокулятов эндомикоризных грибов способствовало интенсивному росту корневых систем *Phaseolus vulgaris* L. и *Zea mays* L., увеличивая как количество, так и длину главного, боковых и придаточных корней по сравнению с таковыми безмикоризных растений в среднем в 1,5 раза. Высота микотрофных растений и показатели площади фотосинтетического аппарата были существенно выше, чем у немикоризных растений. Выявлены штаммы, оказывающие наиболее эффективное влияние на рост изучаемых растений.

OBTAINING CULTURES OF VARIOUS TYPES OF MYCORHIZAL FUNGI AND A COMPARATIVE ANALYSIS OF THEIR EFFECTS ON PLANT GROWTH

Kasymbekov B.K., Faleev D.G., Dzhokebaeva S.A., Tashenov A.A., Orazova S.B.
Scientific Research Institute of ecological problems
Al-Faraby Kazakh National University
Al-Faraby Ave., 71, No. 6, Almaty, Republic of Kazakhstan

The intensification of the natural resources using and extensive farming techniques have resulted to toxic waste pollution, degradation, desertification and salinization, more than half of the land in the country. Under such conditions, arable crops have low productivity and weak resistance to abiogenic and biogenic factors. One way to restore soil fertility is the use of Mycorrhizae. Arbuscular mycorhiza improves plants tolerance to adverse environmental factors and improves soil structure.

Spores of mycorhizal fungi are isolated by us using the wet sieving from soil samples collected in the mountain zone South-East of Kazakhstan. In the selected samples of soils the spores contents ranged 27-658 per 100 g of air-dried soil. The main part of spores is hlamidospores of the endomycorizal mushrooms genus *Glomus*. Spores are secured by method for monospores cultures of mycorhizal fungi. It is studied the influence of soil inoculation with mycorrhizal fungi strains (Gl1-Gl6) to potted plants of maize (*Zea mays* L.) and beans (*Phaseolus vulgaris* L.). The mycorrhizal fungi strains are differed by degree of infectivity and the influence on the growth of plants and stimulated the growth of root systems of plants, increasing the quantity and the length of the main, lateral and adventitious roots on average 1.5 times. Height of mycotrophic plants and photosynthetic apparatus square indicators were substantially higher than nonmycotrophic plants. It is identified the most effective strains by influence on the growth of plants.

ПОЛУЧЕНИЕ ГИДРОЛИЗАТОВ СОЛОМЫ И ОТРУБЕЙ ДЛЯ АЭРОБНЫХ ПРОЦЕССОВ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

Харина М.В., Нуртдинов Р.М., Валеева Р.Т., Мухачев С.Г., Емельянов В.М.
Казанский национальный исследовательский технологический университет
420015 г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 68

Решению задач эффективного энергетического использования древесного растительного сырья, продуктов и отходов растениеводства уделяется большое внимание в развитых странах. Лигноцеллюлозная биомасса растительного сырья – это значительный по объему и возобновляемый источник сахаров, на основе которого могут конструироваться питательные среды для микробиологических синтезов, в том числе для производства этанола.

Проблема экономии сырья на стадии выращивания посевной культуры дрожжей представляет актуальность для спиртовой промышленности. Частичная замена зернового сусла на гидролизаты соломы и отрубей в технологии производства топливных и технических спиртов позволит экономить более 15% зерна с одновременным повышением интенсивности процесса брожения за счет увеличения плотности засева при использовании аэробной дрожжегенерации.

Проведены исследования по оценке биологической доброкачественности гидролизатов соломы путем сравнения показателей роста сахаромицетов на стандартной минеральной среде Ридера с глюкозой и редуцирующими веществами и среде с гидролизатом соломы без добавок факторов роста в одинаковых условиях при концентрации редуцирующих веществ 2 - 6% масс. Гидролизаты соломы были предварительно получены в процессах высокотемпературного кислотного гидролиза соломы и отрубей при варьировании температуры в диапазоне 150 – 190°С и при концентрациях сернистой кислоты в диапазоне 1 – 3% масс. При этом концентрация редуцирующих веществ в фильтрате гидролизата составляла 4,0 -4,1% масс.

Результаты экспериментов свидетельствуют о достаточно высоком качестве гидролизатов. Хотя скорость роста дрожжей при использовании гидролизатов соломы и отрубей снижалась на 20-25% по сравнению с экспериментом на глюкозосодержащей среде, была достигнута концентрация биомассы 18 - 24 кг АСД/л при начальной концентрации РВ около 5% масс.

OBTAINING HYDROLYSATES OF STRAW AND MILL OFFALS FOR AEROBIC PROCESSES OF MICROBIOLOGICAL SYNTHESIS

Kharina M.V., Nurtdinov R.M., Valeeva R.T., Mukhachev S.G., Emelyanov V.M
Kazan National Research Technological University
420015, Kazan, 68 Karl Marx street

The problem of using wood raw materials, plant-growing products and wastes as effective energy sources attracts the great interest in developed countries. Widespread lignocellulosic biomass of plant raw materials is the renewable source of sugars which can be used for developing nutritional mediums for microbiological synthesis including ethanol production.

Material saving at the inoculum yeast growth stage is the actual problem for the distillation industry. Part substitution of grain mash to straw and mill offals hydrolysates for technology production of fuel and industrial alcohol allows us to save more than fifteen percent of grain with simultaneous rise of fermentation intensity due to the increase of passage density using aerobiotic yeast generation.

Studies of estimation of straw hydrolysates biological purity via comparison of indicator *Saccharomyces* growth on a typical mineral Rieder medium with glucose and reducing substances and medium with hydrolysate of straw without addition of growth factors under the same conditions at a concentration of reducing substances 2 - 6% wt were carried out.

Hydrolysates of straw were previously obtained in high temperature acid hydrolysis of straw and mill offals. in the variation of Temperature varies in the range 150 - 190°C and concentration of sulfuric acid varies in the range of 1 - 3% wt. The concentration of reducing substances in the hydrolysate was 4.0 -4.1% wt.

The experimental results demonstrate a high quality of hydrolysates. Although the rate of yeast growth using straw and mill offals hydrolysates reduced by 20-25% compared to the medium with glucose, biomass concentration was reached 18 - 24 kg absolutely dry yeast/L at the initial concentration of reducing substances about 5% wt.

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛЕСНЫХ И ЛУГОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ

Козлова З.Г.
ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН,
119334, Москва, ул. Косыгина, д. 4

Интерес к целебным растениям вызван тем, что большинство этих растений используют в лекарственных препаратах. Наши предки веками использовали их для лечения различных недугов, и следует отметить, что интерес к ним не утихает и сейчас. Широта целебных свойств позволяет с успехом применять их практически во всем спектре терапии.

Растительный мир богат фенольными соединениями, которые обладают антиокислительными свойствами и биологической активностью, обусловленной их способностью принимать участие в регуляции окислительных процессов в организме человека.

Целью данной работы стало изучение и количественная оценка антиоксидантной активности (АОА) ряда лекарственных растений.

Объектом исследования стали легко доступные лесные и луговые целебные растения. В данной работе был проведен скрининг потенциально наиболее эффективных растений с точки зрения содержания в них антиоксидантов (АО). Следует заметить, что одни АО являются жирорастворимыми, другие – водорастворимыми. Количественный анализ жирорастворимых АО осуществляли с помощью модельной реакции окисления углеводорода (изопропилбензола). Для исследования водорастворимых АО анализ проводили в смеси полярных и неполярных растворителей – углеводородов: к кумолу добавляли смеси н-гексана, диметилсульфоксида и воды.

Исследовано 8 лесных и луговых трав – Мать-и-мачеха (лист), Зверобой (трава), Лопух (лист), Клевер (соцветия), Одуванчик (лист), Подорожник (лист), Пижма (соцветия), Крапива (лист).

В данной работе получены количественные данные по жиро- и водорастворимым АО в лекарственных травах. Эти данные колеблются для жирорастворимых АО в пределах $1,0 \cdot 10^{-3}$- $9,9 \cdot 10^{-3}$ моль/кг и от $2,5 \cdot 10^{-3}$до $1,8 \cdot 10^{-2}$ моль/кг для суммарного содержания жиро- и водорастворимых АО. В основном, все образцы, содержащие более $1,0 \cdot 10^{-3}$ моль/кг, являются потенциальным источником АО для организма. Исследованные растения по содержанию АО можно расположить в следующей последовательности: Крапива > Подорожник > Клевер > Лопух > Мать-и-мачеха > Зверобой > Пижма > Одуванчик.

ANTIOXIDANTIVE ACTIVITY OF FOREST AND MEADOW MEDICINAL HERBS

Kozlova Z.G.
Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences (RAS), 119334, 4 Kosygin St., Moscow.

The study of health-giving herbs attracts interest because most of these plants are used in medicines. Our ancestors have used them for centuries for treating various ailments and interest in them continues to this day. Their broad health-giving properties make it possible to successfully use them in practically all therapeutic spheres.

The vegetable kingdom is rich in phenol compounds which possess antioxidant properties and biological activity allowing them to participate in regulating the oxidizing processes in the human organism.

The aim of the present work was to study and evaluate the antioxidant activity (AOA) of a number of medicinal plants.

Easily attainable forest and meadow medicinal herbs were used for the objects of investigation in the present work. The potentially most effective herbs from the standpoint of containing antioxidants (AO) were screened. It should be noted that some AO are fat soluble, others water soluble. Quantitative analysis of fat-soluble AO was carried out by means of a model reaction of hydrocarbon (isopropyl benzene) oxidation. For investigating water-soluble AO, the analysis was performed in a mixture of polar and non-polar hydrocarbon-solvents: a mixture of hexane and water was added to cumene.

Eight forest and meadow herbs (Coltsfoot leaves, St. John's wort herb, Burdock leaves, Clover inflorescences, Dandelion leaves, Plantain leaves, Tansy inflorescences and Nettle leaves) were investigated.

Quantitative data for fat- and water-soluble AO in medicinal herbs were obtained. These data vary for fat-soluble AO in the range from $1.0 \cdot 10^{-3}$ to $9.9 \cdot 10^{-3}$ mole/kg and from $2.5 \cdot 10^{-3}$ to $1.8 \cdot 10^{-2}$ mole/kg for the total content of fat- and water-soluble AO. In the main, all samples containing more than $1.0 \cdot 10^{-3}$ mole/kg are potential sources of AO for the organism. The relatively high content of AO in medicinal herbs was fund in the following gradation: Nettle > Plantain > Clover > Burdock > Coltsfoot > St. John's wort > Tansy > Dandelion.

НАСЕКОМЫЕ – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОДУЦЕНТЫ ВОЗОБНОВЛЯЕМОГО ОРГАНИЧЕСКОГО СЫРЬЯ

Мадьяров Ш.Р.
Институт генофонда растительного и животного мира Узбекистана. Академия наук Узбекистана. E-mail: shuhm@yandex.ru

Класс Насекомые (Insecta) – широко распространенная и самая многочисленная по видам группа древних животных, близких к растениям по времени их появления на Земле, на современном этапе с использованием биотехнологических подходов может стать альтернативным источником новых продуктов народного потребления для всевозрастающего населения Земли [1]. Несмотря на их многообразие до недавнего времени человеком практически использовались только медоносная пчела, тутовый шелкопряд и кошенель.

Насекомые по сравнению с другими животными, за свою ~ 0,4 млрд.-летнюю историю выработали в себе уникальные механизмы и средства защиты, выживания и дальнейшего развития. Задача естественных наук – выявить эти атрибуты активной и здоровой жизни и применить

их в нашей повседневной практике. Как и растения, насекомые обладают высоким биогенным потенциалом и являются источниками ценного фармакологического сырья животного происхождения. Более широкое, непромышленное использование некоторых насекомых известно с давних пор как проверенные временем средства нетрадиционной медицины. Тутовый шелкопряд в Китае и других странах Юго-Восточной Азии используется как лекарственное средство от многих болезней.

С конца XIX века некоторые насекомые начинают использоваться как экологически чистое орудие в биологической борьбе с насекомыми вредителями сельского хозяйства первоначально, как колонизируемые энтомофаги и несколько позже, как продуценты высокоспецифичных биоинсектицидов на основе энтомопатогенов. В настоящее время достижения молекулярной биологии и биотехнологии позволили значительно усилить поражающее действие природных вирусов, приблизив их генетически модифицированные (ГМ) конструкции по эффективности действия к современным химическим инсектицидам и, являясь безвредными для человека, животных и окружающей среды, инсектициды нового поколения представят им серьезную альтернативу [2,3].

Для стандартизации, контроля биосинтеза требуемых биорегуляторов и индустриализации процессов биотехнологии насекомых разработаны искусственные питательные среды для тутового шелкопряда и других насекомых фитофагов, методы массового разведения на них насекомых, комплексной биотехнологии переработки и фракционирования полученной биомассы и выделения требуемых продуктов [1,4]. Ассортимент нативных продуктов, в том числе и физиологически-активных природных соединений из насекомых можно значительно преумножить, используя биопротективный метод морки и сушки насекомых, их органов и биологических жидкостей [1,4,5]. Насекомые и, особен-но, одомашненный в многовековой селекции тутовый шелкопряд обладают значительно высоким биогенным потенциалом, чем домашние животные – мясопроизводители (темпы развития на 2-3 порядка выше). Это выдвигает тутовый шелкопряд в первые ряды продуцентов органического сырья для народного потребления и в будущем вместе с шелковицей на инопланетных поселениях астронавтов [1,4,6-9].

В настоящем исследовании приведены показатели пищевой полноценности белковых, углеводных и липидных изолятов, биологической и стимулирующей активности гидролизатов куколок, серицина и фиброина, высокой активности выделяемых ферментов и ингибиторов протеаз, а также методы утилизации отходов шелководства и технологии шелка в новые биомедицинские и нанотехнологические продукты [1,4,7-11].

Литература:

1. Мадьяров Ш.Р.Биотехнологические подходы в шелководстве и технологии шелка // Дисс. д.б.н. (Биотехнология). Автореферат – Ташкент, – 2010. – 44с.
2. Madyarov S.R.Biotechnological approaches in sericultural science and technology of Uzbekistan. // Int. J. Indust. Entomol.– 2005. – N 1 (11). – P. 13-19.
3. Madyarov S.R.Bioprotective method of concentration, drying and sterilization of biological objects in conditions of continental and damp climate. // International Scientific Conference “INFRA-2000”. – Tashkent, – 2000. – P. 72-76.
4. Madyarov Sh. R., Ilyin E.A., Janibekov V.A.The silkworm *Bombyx mori* L. on orbit in an Earth artificial satellite // Sericologia (France). – 1995. – № 1 (35).- P. 109-112.
5. Madyarov S.R.Utilization of mulberry silkworm pupae. // Biotechnology Status and Prospects of Development: Proceed. of 3rd International Congress, Moscow, – 14-18 March. – 2005. – P. 272
6. Madyarov S.R.Silk fibroin as matrix material for pharmacy, bio-and nanotechnology // Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology. Nagoya, Japan. – March 21-22. 2008. P-07. P. 49.

Ключевые слова: насекомые, искусственный корм, органическое сырье, продукты питания, фармпрепараты, биопестициды, тутовый шелкопряд,, шелководство, отходы, утилизация, биотехнология, нанотехнология.

THE INSECTS AS PERSPECTIVE PRODUCERS OF RENEWABLE ORGANICS

Shukhrat R. Madyarov
Institute of the Gene Pool of Plants and Animals. Academy of Sciences of Uzbekistan
32, Durmon-yuli str., 100125. Tashkent, Uzbekistan. E-mail: shuhm@yandex.ru

Class of insects (*Insecta*) is a widespread and most numerous by species group of ancient animals close to plants by time of their appearance on the Earth. At the present stage using biotechnological approaches they can become an alternative source of new consumer goods for progressively increased population of Earth. The insects as compared with other animals, have formed during approximately 0.4 billion years of existence the unique mechanisms and means of protection, survival and further development. The task of biosciences is to reveal these attributes of active and healthy life and to apply them to our everyday practice. Insects as plants having a high biogenic potential are the sources of valuable pharmacological raw material but animal origin and used as time-proved means of non-traditional folk medicine.

Since end of XIXth century some insects were used as colonized entomophages and some later as producers of high specific natural insecticides on basis of entomopathogenes. At present achievements of molecular biology and biotechnology allowed significantly increase damaging action of natural viruses. So gene-modified virus constructions are approximated to the present day chemical insecticides by their efficiency. New generation insecticides being friendly for human and environment will be a serious alternative to chemical insecticides.

For standardization and control of demanded bioregulators biosynthesis and for industrialization of insect biotechnology processes the artificial diets for mulberry silkworm and other insect phytophages have been developed. Methods of insect mass rearing on them, methods of complex biotechnology processing, fractionation of obtained biomass and isolation of demanded products have been developed too.

Assortment of native natural products including biologically active compounds from insects can be significantly expand using developed bioprotective methods of suffocating and drying of insects, their organs and biological liquids.

Insects and especially domestic mulberry silkworm have significantly higher development's rates than industrial animals meat-producers (2-3 orders higher). It puts mulberry silkworm in the forefront of organic raw material producers in future and together with mulberry plant for extraterrestrial settlements of astronauts.

The data of nutritive value of protein, carbohydrate and lipid isolates, stimulating and biological activity of pupae, fibroin and sericin hydrolyzates, isolated enzymes inhibitors and methods of sericulture and silk technology wastes utilization into new biomedical and nanotechnological products are represented in the study.

References:

1.Madyarov Sh. R. 2010. Biotechnological approaches in sericulture and silk production. Dr. Sci. (Biotechnology). Dissertation Thesis. Tashkent, 44 p.

2. Madyarov S.R.2005. Biotechnological approaches in sericultural science and technology of Uzbekistan. Int. J. Indust. Entomol., 1 (11), P. 13-19.

3. Madyarov S.R.2000. Bioprotective method of concentration, drying and sterilization of biolog-

ical objects in conditions of continental and damp climate. Int. Sci. Conf. “INFRA-2000”. – Tashkent- P. 72-76.

4. Madyarov Sh. R., Ilyin E.A.1995. Janibekov V.A.The silkworm *Bombyx mori* L. on orbit in an Earth artificial satellite. Sericologia (France).. – № 1 (35).- P. 109-112.

5. Madyarov S.R.2005. Utilization of mulberry silkworm pupae. Biotechnology: Status and Prospects of Development: Proceed. of 3rd International Congress, Moscow, – 14-18 March.. – P. 272

6. Madyarov S.R.Silk fibroin as matrix material for pharmacy, bio- and nanotechnology. Asia-Pacific Congress of Sericulture and Insect Biotechnology. Nagoya, Japan. – March 21-22. 2008. P-07. P. 49.

Key words insects, artificial diet, renewable organics, food products, medicines, biopesticides, mulberry silkworm sericulture, wastes, utilization, biotechnology, nanotechnology.

УЛУЧШЕНИЕ ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ И УСВОЯЕМОСТИ ПИТАТЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ ХЛОПКОВЫХ СЕМЯН И ШЕЛКОВИЧНЫХ КОКОНОВ

Мадьяров Ш.Р.[1,2], **Исламова Ш.К.**[2], **Умаров Ш.Р.**[2]

[1]*Институт генофонда растительного и животного мира Узбекистана. Академия наук Узбекистана;*

[2]*Узбекский НИИ Шелководства, Ташкент*

E-mail: shuhm@yandex.ru

Узбекистан является одним из значимых мировых производителей хлопка и шелка-сырца. Тенденцией развития современной промышленности является безотходная утилизация сельхозпродукции. К сожалению, до настоящего времени концентрируясь только на производстве хлопкового масла и шелка-сырца, мы теряем значительную часть важных биологически-активных веществ семян хлопчатника и тутового шелкопряда.

Настоящая работа связана с созданием искусственных корма для

тутового шелкопряда и других насекомых с использованием местного сырья, включая отходы хлопководства и шелководства.

С этой целью на первой стадии фракционирования сырья было произведено физическое отделение госсипольных гланд из муки семян хлопчатника и осуществлен биопротективный метод морки, сушки и стерилизации свежих коконов. Эти подходы позволили получить из семян хлопчатника отдельно свободную от госсипола муку, госсипол, масло из семян хлопчатника, содержащее глицериды, фосфолипиды, стеролы, токоферолы и другие липидные компоненты семян хлопчатника, а также белковые и липидные концентраты куколок тутового шелкопряда.

Безгоссипольная мука семян хлопчатника и белковый концентрат тутового шелкопряда содержат нативные резервные и функциональные белки (включая ферменты), углеводы и другие биополимеры и являются прекрасным источником для их выделения и очистки.

Дополнительным улучшением питательных свойств безгоссипольной муки и белкового концентрата куколок может быть достигнуто удалением репеллентов, антифидантов, аллергенов и ингибиторов протеолитических ферментов, а также их кислотным и ферментативным гидролизом.

Биолипидные концентраты могут быть источниками упомянутых растительных и животных компонентов для искусственных диет, а также для био- и нанотехнологического применения.

Волокнистые отходы переработки хлопка и шелка после биотехноло-гической предобработки могут быть использованы в качестве компонентов искусственных диет, кормов для домашних животных и для других целей.

Литература:

1. Мадьяров Ш.Р.(1995) Характеристика некоторых белковых препаратов для производства комбикормов и для искусственных питательных сред // Химия природ. соедин. – № 1. – С. 145-153.

2. Madyarov Sh.R., Lee K.G., Yeo J.H., Lee Y.W.(1999) Improved method for the preparation of silk fibroin hydrolysates // *Korean J. Sericult. Sci.,* N2 (41), P.108-115.

3. Madyarov Sh.R. (2005) Biotechnological approaches in sericultural science and silk technology of Uzbekistan // *Intern. J. Indust. Entomol.,* N1 (11), P.13-19.

4.Мадьяров Ш.Р.(2010) Биотехнологические подходы в шелководстве и технологии шелка // Автореферат докт. диссер., Институт микробиологии, Академия наук Республики Узбекистан, Ташкент, 44 с.

Ключевые слова: хлопковые семена, шелковичные коконы, усвояемость, питательность.

IMPROVEMENT OF FOOD VALUE AND ASSIMILABILITY OF NUTRITIOUS COMPONENTS OF COTTON SEEDS AND SILKWORM COCOONS

Madyarov Sh. R.[1,2], **Islamova Sh.K.**[2], **Umarov Sh.R**[2].

[1]*Institute of the Gene Pool of Plants and Animals.*
Academy of Sciences of Uzbekistan;
[2]*Uzbek Research Institute of Sericulture. Tashkent.*
E-mail: shuhm@yandex.ru

Uzbekistan is considered as one of significant world producers of cotton and raw silk. Wasteless utilization of agricultural production is a tendency of modern industry development. Unfortunately up to the present time focusing only on production of commercial cotton-seed oil and raw silk, a major part of valuable biologically active substances of cotton seeds and silkworm cocoons is lost.

The work is concerned with creation of artificial diet for mulberry silkworm and other insects with use of local raw materials including cotton growing and sericulture wastes.

For this purpose at the first stage of raw-materials step-by-step fractionating a physical separation of cotton seed glands and bioprotective method of suffocating, drying and sterilization of fresh cocoons have been undertaken. These approaches were allowed to obtain from cotton seeds separated gossypol-free flour, gossypol, cottonseed oil containing natural glycerols, phospholipids, sterols, tocopherols and othercotton-seeds lipid components as well as an protein and lipid concentrates of mulberrysilkworm pupae.

Cotton seed gossypol-free four and protein concentrate of mulberry silkworm pupae contain native reserve and functional proteins (including enzymes), carbohydrates and other biopolymers and are the good sources for their isolation and purification.

Additional improvement of nutritious properties of gossypol-free flour and protein concentrate of pupae can be achieved by removal of repellents, antifeedants and inhibitors of proteolytic enzymes as well as by their acidic and enzymatic hydrolysis.

Biolipid concentrates can be the sources of plant and animal mentioned lipid components for artificial diets and also for bio- and nanotechnological application.

Fibrous wastes of cotton and silk processing after biotechnological pre-treatment can be used to apply as components of artificial diets, feeds for pets and for other purposes.

References:

1. Madyarov Sh.R. (1995) Charachteristics of some proteins preparations for fodder and artificial diet production // *Chem. Natural Comp.,* N1, P. 145-153. (Russian).

2. Madyarov Sh.R., Lee K.G., Yeo J.H., Lee Y.W.(1999) Improved method for the preparation of silk fibroin hydrolysates // *Korean J. Sericult. Sci.,* N2 (41), P.108-115.

3. Madyarov Sh.R. (2005) Biotechnological approaches in sericultural science and silk technology of Uzbekistan // *Intern. J. Indust. Entomol.,* N1 (11), P.13-19.

4. Madyarov Sh.R. (2010) Biotechnological approaches in sericulture and silk technology // Dr. Sc. (Biotechnology) Thesis, Institute of Microbiology, Uzbek Academy of Sciences, Tashkent, 44p.

Key words: cotton seeds, silkworm cocoons, food value, assimilability.

ПОЛУЧЕНИЕ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ИЗ УКРОПА *ANETHUM GRAVEOLENS*

Мельникова Д.Н., Финкина Е.И., Баландин С.В., Овчинникова Т.В.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и
Ю.А. Овчинникова Российской академии наук,
117997, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Один из классов защитных белков растений составляют липид-транспортирующие белки (LTP), обладающие способностью связывать и переносить молекулы липидов. Данные белки не только связывают липидные молекулы, но также обладают противогрибковой, антибактериальной и противовирусной активностью и ингибируют протеолитические ферменты. LTP из разных растений отличаются друг от друга по способности связывать липиды и ингибировать рост фитопатогенных микроорганизмов.

Целью нашей работы был поиск, выделение и структурно-функциональная характеристика нового LTP из укропа огородного *Anethum graveolens.* В зелёных частях укропа был обнаружен белок с молекулярной массой 9524 Да, N-концевая аминокислотная последовательностью которого имела сходство с последовательностями растительных LTP. Схема выделения нового LTP включала экстракцию, диализ, катионообменную хроматографию и обращенно-фазовую ВЭЖХ. Полная аминокислотная последовательность нового LTP, названного Ag-LTP, а также структура полноразмерной кДНК, кодирующей его белок-предшественник, были установлены в результате использования метода быстрой амплификации концов кДНК. Рекомбинантный Ag-LTP был получен в результате трансформации клеток *E. coli* BL-21(DE3) плазмидой pET-His8-TrxL-Ag-LTP, проведения препаративной экспрессии и выделения целевого белка с использованием методов аффинной хроматографии, химического расщепления и обращенно-фазовой ВЭЖХ. Сравнительное исследование способности LTP из разных растений связывать липиды и ингибировать рост фитопатогенных микроорганизмов было проведено с использованием рекомбинантного аналога Ag-LTP укропа и полученного ранее в УНЦ ИБХ РАН рекомбинантного аналога Lc-LTP2 чечевицы.

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках

ФЦП “Научные и научно-педагогические кадры инновационной России” на 2009-2013 годы (соглашение № 8043 от 20.07.2012 г.) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 12-04-01224).

PURIFICATION AND STRUCTURE-FUNCTION CHARACTERIZATION OF A NOVEL LIPID TRANSFER PROTEIN FROM THE DILL *ANETHUM GRAVEOLENS*

Melnikova D.N., Finkina E.I., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V.
Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Sciences,
Miklukho-Maklaya str., 16/10, 117997 Moscow, Russia

Plant lipid transfer proteins (LTPs) belong to a family of pathogenesis-related (PR) proteins and are able to bind and transfer lipid molecules. Besides LTPs display antifungal, antibacterial, and antiviral activity and inhibit proteolytic enzymes. LTPs of different plants vary in their ability to bind lipids and to inhibit the growth of pathogenic microorganisms.

The present work aimed to search and isolate a novel LTP from the garden dill *Anethum graveolens* and to characterize its structure-function relationships. We discovered a new protein with a molecular mass of 9524 Da in leaves and stalks of the dill and determined its N-terminal amino acid sequence possessing significant homology to plant LTPs. Purification was performed by a cascade of extraction, dialysis, cation exchange chromatography, and reversed-phase HPLC. Complete primary structures of the novel LTP, called Ag-LTP, and of its precursor were determined using the method of rapid amplification of cDNA ends. The recombinant Ag-LTP was obtained by transformation of *E. coli* BL-21 (DE3) cells with the plasmid pET-His8-TrxL-Ag-LTP, followed by preparative expression and purification of the target protein using immobilized metal ion affinity chromatography (IMAC), chemical cleavage and subsequent reversed-phase HPLC. We compared the abilities of LTPs from different plant species to bind lipids and inhibit the growth of pathogenic microorganisms using the recombinant dill Ag-LTP and the previously obtained at the SEC IBCh recombinant lentil Lc-LTP2.

This work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation within the FTP "Scientific and Scientific-Pedagogical Personnel of the Innovative Russia in 2009-2013" (agreement No. 8043 of 20.07.2012), and by the Russian Foundation for Basic Research (project No. 12-04-01224).

STUDY OF SOME PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO HULLESS BARLEY LINES UNDER PEG TREATMENT

Soghra Asgari Avini, Raheem Haddad, Hamidreza Nik-khah
Department of Agricultural Biotechnology, Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad, E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

Drought is one of the most important abiotic stresses that affect plant health and survival. Extension of arid and semi-arid area is one of major problems that face to human beings' future. Hulless barley (*Hordeum vulgar* L.) as a drought resistant crop has excellent level of soluble fiber, protein, carbohydrates and B vitamins that make it equal nutritional value to wheat and corn and usually uses for poultry nutrition. In this paper, differences between percentage and rate of germination, root and plumule length, fresh and dry weight of two hulless barley lines (UH-12 and EH-81-5) under various osmotic potential have been studied. For this point, an experimental design has been performed under a complete randomized design (CRD) with three replications. To develop an osmotic condition under *in-vitro* culture, polyethylene glycol (PEG 6000) with 0 (control), -6, -9 and -12 bars were used. For statistical analysis, SAS 9.0 were used and differences among treatment means were compared by Duncan's test at 5% probability level. The results indicated that reduction osmotic potential in culture

media cause to significant decrease in percentage and rate of germination, radicle and plumule length, seed vigority index, fresh and dry weight. Among two lines, UH-12 represented better percentage and rate of germination in higher potential of PEG. Therefore, during germination stage, this line tolerates higher levels of drought stress than other one.

EFFECT OF THE PEG TREATMENTS ON SOME PHYSIOLOGICAL CHARACTERS IN TWO BARLEY (*HORDEUM VULGAR* L.) INBRED LINES

Masume Ghadami, Raheem Haddad, Abbas Sotudenia
Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad, E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

Barley is one of the most domesticated grain and use as a component of foods as it contains a high level of proteins. Drought stress is one of the most important abiotic stresses and accounts a serious threat to environment, causing a significant reduction in plant germination. Limited water supply is an important factor affecting growth activities of plant. This article compared 2 lines (resistant & sensitive) of barley under drought stress. This article studied PEG pretreatment effect on the mature embryo culture *in vitro* by using barley seeds. PEG (6000) treatment for seeds had a positive action on seed germination. Our experiment was conducted in a complete randomize design using three replications at three levels (0, -6 & -9 Mpa). The purpose of this article were measured the percentage of germination, germination rate, final germination, length of plumule, root length, fresh and dry weight. Results indicated that 22th lines were the most resistant and other 13th lines were sensitive under such stress. PEG treatment caused the significant reduction in all above measured factors, accounted a significantly treatment to reduce reactive oxygen species on such treated plants, leading to use the silicon on the field of crops under drought stress.

Key words: Barley inbred lines, PEG, Resistance, Tolerance.

STUDY THE EFFECT OF THE PEG (6000) PRETREATMENT ON PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO ADVANCED LINES OF *DURUM WHEAT* UNDER DROUGHT STRESS

Raheem Haddad, Zahra Karimlou, Abdolali Gaffari, Abbas Sotoodehnia
Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad, E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

Drought is one of the primary environmental stresses to play an important role in decreasing crop yields, plant growth, rate of germination and seedling growth. Seedling emergence is one of the most important stages of growth that is sensitive to water deficit. As *Durum wheat* is the only tetraploid species of wheat and has a high level of protein content, it is cultivated as a feed crop plant worldwide. It is commonly grown on marginal soil under rainfed conditions. PEGS are a group of neutral osmotical active polymers. In the present research project, we used five various levels of osmotic treatments (0, -6, -9, -12 & -15 Mpa) to cause different level of osmotic pressure, base on the complete randomized design (CRD) in three replications. This article studied PEG pretreatment effect on the mature embryo culture *in vitro* by using *Durum wheat* seeds. Some of the relevant characters including of germination

velocity, percentage of final germination, germination index, root and shoot length, germination rate index and plumule length were measured to catch purpose of such investigation. Results indicated a significant reduction represented by forementioned factors, caused by increasing in concentration of PEG. Our assessment indicated that stj3//bcr/lks4/3/ter-3 line had the highest tolerance against the drought stress and stj3//bcr/lks4/3/ter-3line had a higher germination rate than saji.

МОДЕЛЬ АПОПТОЗА У РАСТЕНИЙ

Павловская Н.Е., Гаврилова А.Ю.
ФГБОУ ВПО «Орловский государственный аграрный университет»
302019, г. Орел, ул. Генерала Родина, 69

Проведены сравнительные исследования проявления естественного апоптоза в колеоптилях пшеницы, ячменя и при формировании листа монстеры. Изучено индуцирование апоптоза на основе фрагментации ДНК, активности ферментов антиоксидантной системы и динамики накопления низкомолекулярных антиоксидантов на начальных стадиях развития растений. Изучена активность теломеразы в норме и при апоптозе. Разработана биохимическая модель апоптоза растительных клеток, заключающаяся в регистрации изменения активности антиоксидантов, нарушении проницаемости мембран, фрагментации ДНК по типу «лесенки» и активности теломеразы. Выделены компоненты индукции апоптоза.

Полученные результаты исследований форм гибели клеток у растений расширяют представление о роли биоэнергетических систем клетки и активных форм кислорода в программируемой гибели клеток. Программируемая гибель клеток играет важную роль в иммунитете растений, что может дать ключ к созданию новых сортов сельскохозяйственных растений, обладающих повышенной устойчивостью к патогенам. Контроль над некрозом и апоптозом растений позволит создавать средства, регулирующие продолжительность жизни, синхронность созревания урожая. На основании полученных данных можно прогнозировать довизуальные симптомы генетических нарушений, происходящих в живых объектах под влиянием экстремальных факторов, осуществлять мониторинг окружающей среды.

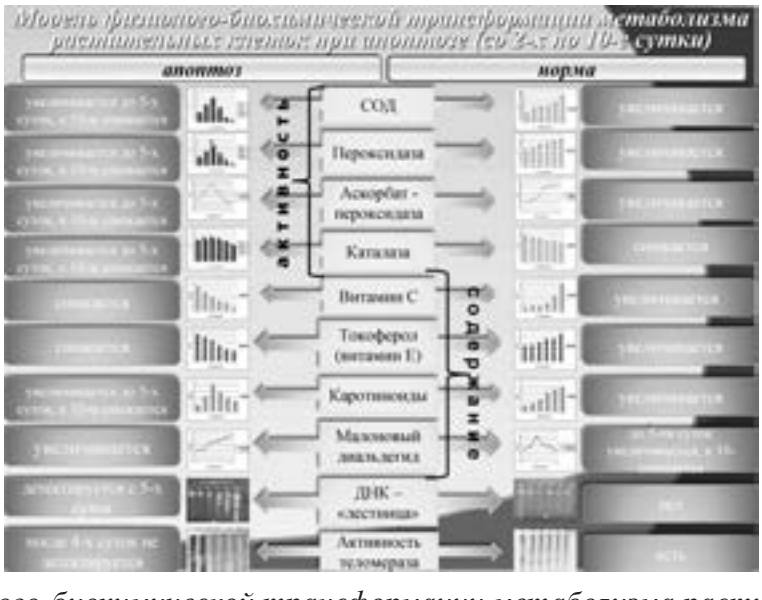


Рис. 1 - Модель физиолого-биохимической трансформации метаболизма растительных клеток при апоптозе (со 2-х по 10-е сутки)

BIOTECHNOLOGICAL PROCESSING OF PRODUCTION WASTES BUCKWHEATS AND PROCESSING OF SUGAR BEET THE ENTERPRISES FOR RECEPTION OF USEFUL PRODUCTS

Parahin N.V., Pavlovskay N.E., Gorkova I.V., Gagarina I.N., Piskureva V.A.
Orel state agrarian university, Orel, street of the General Rodina, 69.

At the heart of researches principles of maintenance of ecological safety of environment, and a finding of additional sources of raw materials for vitamin, food, etc. the industries, and also expansion of assortment of the foodstuff enriched by natural biologically active substances and vitamins, on the basis of processing of a waste agricultural and industrial production lay.

By our researches it is shown, that valuable raw materials for reception the routine is buckwheat. The maintenance routine in plants of different grades and kinds гречихи fluctuates, that gives the chance revealings of forms with the high maintenance of vitamin P and receptions of the new foodstuff enriched by vitamins.

Advanced technological schemes are developed for full extraction of vitamins and bioflavonoides from production wastes buckwheat. At the same time buckwheat is raw materials for reception of food dyes with the functional properties, nonconventional products used for preparation. By the chemical nature a basis of dye from straw buckwheat make antocians, giving attractive, a trade dress to the combined products.

The analysis of an exit of a waste processing of sugar beet the industries for last 5 years is carried out. The biochemical structure sugar-beet bagasse is investigated, the basic directions of processing of a waste processing of sugar beet manufactures of the Orel area are defined. Pectins from sugar-beet bagasse are allocated and the physical and chemical analysis which has shown perspectivity of its use in the food-processing industry and medicine is carried out. At the same time valuable raw materials for bioethanol reception is other by-product of processing of a sugar beet molasses. Technologies of reception of ethyl spirit with high октановым number, with simultaneous decrease in the maintenance of lead are developed.

IMPROVEMENT STRATEGIES FOR DRY TOLERANCE BY ANTIOXIDANT ENZYME ANALYZING ON TRITICALE

Raheem Haddad, Elham Salmani
Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad, E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

In the present study, effect of Silicon (Si) were investigated to analyze drought induced oxidative stress on antioxidative enzymes on two triticale (X Triticosecale) genotypes JUANILO92 (sensitive) and ET-79-17 (tolerant) differing in an experiment with factorial test by three treatment and three repeat. The effects of single stress of silicon on plant growth, oxidative stress and antioxidative enzymes were studied. H_2O_2 Contents, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity, were investigated to analyze the plant growth. Result showed that compared to the plants treated with drought alone, Si treatment caused to increase the activity of SOD and CAT under drought stressed leaves of both cultivars. There was also a marked difference between the two triticale genotypes in the extent of increased antioxidative enzyme activity under dry and silicon stress. This biochemical component may be used as a bio chemical marker to response on drought-stressed, and moreover, may protect the

plant tissues from oxidative damage. The result of the present experiment coincided with the conclusion that Si may be involved in the metabolic or physiological changes to increase drought tolerance in Triticale plant.

РИЗОБАКТЕРИИ И АРБУСКУЛЯРНЫЕ МИКОРИЗНЫЕ ГРИБЫ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РОСТА И РАЗВИТИЯ ТРИТИКАЛЕ

Соловьева Е.А., Алещенкова З.М.
Институт микробиологии НАН Беларуси,
220141, г. Минск, Беларусь,
ул. Купревича,2, aleschenkova@mbio.bas-net.by

Использование микробных препаратов в технологии возделывания зерновых культур позволяет снизить экономические затраты и обеспечить экологизацию сельскохозяйственного производства.

Целью наших исследований была разработка научных основ создания комплексного микробного препарата на основе ризобактерий и арбускулярных микоризных грибов (АМГ), обеспечивающих взаимовыгодные отношения с тритикале (гибрид пшеницы и ржи), обладающей высокой кормовой ценностью и устойчивостью к неблагоприятным почвенно-климатическим условиям.

Выделение ризобактерий проводили из ризосферы тритикале, отбор PGPR-изолятов осуществляли по нитрогеназной активности, способности к синтезу индолил-3-уксусной кислоты, ростстимулирующей активности, конкурентной и колонизирующей корни растений способности. Идентификация PGPR-изолятов проводилась путем анализа последовательности 16S rRNA. Морфологию спор АМГ изучали с помощью трансмиссионной микроскопии. Выделение суммарной ДНК из корней тритикале, инфицированных АМГ, проводили CTAB-методом. Молекулярно-генетический анализ выделенной ДНК осуществляли с помощью Fungi-universal и специфических для АМГ рода *Glomus* праймеров.

Из 18 выделенных изолятов ризобактерий наиболее активным оказался изолят № 17, который на основании морфологических и физиолого-биохимических свойств был отнесен к роду *Agrobacterium*. Анализ последовательности 16S rRNA показал, что изолят № 17 относится к роду *Rhizobium*, к которому в настоящее время относят многих агробактерий. Анализ морфологии выделенных спор и полученных ПЦР-продуктов свидетельствует о наличии в корнях тритикале АМГ рода *Glomus*. Совместная предпосевная инокуляция семян тритикале штаммами *Rhizobium sp.* 17 и АМГ рода *Glomus* стимулировала рост и развитие растений и обеспечила прибавку урожая зерна яровой и озимой тритикале в полевых условиях в среднем на 14,5%.

RHIZOBACTERIA AND ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI TO PROMOTE GROWTH AND DEVELOPMENT OF TRITICALE CULTIVARS

Solovyeva E.A., Aleschenkova Z.M.
Institute of Microbiology, National Academy of Sciences,
Kuprevich str.2, 220141,
Minsk, Belarus, aleschenkova@mbio.bas-net.by

Application of microbial preparations in grain crop cultivation technologies allows to reduce costs and secure ecologization of agricultural production.

This study was aimed at elaboration of theoretical principles for production of complex biopreparation based on Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) ensuring efficient mutually beneficial interactions with triticale (wheat-rye hybrid), distinguished by high feed nutritive value and resistance to adverse soil-climatic conditions.

Rhizobacteria cultures were isolated from triticale rhizosphere, PGPR isolates were screened for nitrogenase, growth-stimulating competitive and root-colonizing activity, for the ability to synthesize phytohormone (IAA). Identification of PGPR isolates was carried out by 16S rRNA sequence analysis. AMF spores were recovered from soil by wet sieving technique, their morphology was examined using transmission microscopy. Isolation of total DNA from triticale roots infected by AMF was performed by CTAB-method. Molecular-genetic analysis of isolated DNA was conducted using fungi-universal and specific for AMF of genus *Glomus* primers.

Among 18 isolates of rhizobacteria variant № 17 proved most active and its morphological and biochemical characterization allowed to affiliate it to genus *Agrobacterium*. Deciphering of 16S rRNA sequence has shown that isolate № 17 belongs to genus *Rhizobium*, currently encompassing some representatives of genus *Agrobacterium*. Morphological examination of isolated spores and obtained PCR-products has revealed AMF of genus *Glomus* in triticale roots.

A combined seed inoculation with *Rhizobium sp.* 17 and AMG of genus *Glomus* stimulated growth of cultivars and guaranteed grain harvest rise of spring and winter of triticale by an average figure 14.5%.

НЕКОТОРЫЕ ПРИЕМЫ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРИ ПОВЫШЕНИИ ПЛОДОРОДИЯ МЕРЗЛОТНЫХ ПОЧВ ЯКУТИИ

Степанов А.И.,
кандидат сельскохозяйственных наук,
Прибылых Е.И.,
кандидат сельскохозяйственных наук,
ГНУ Якутский НИИСХ Россельхозакадемии
г. Якутск, Россия e-mail: yniicxi@mail.ru

В условиях Якутии в качестве основного органического удобрения в основном используется свежий или необеззараженный навоз крупного рогатого скота, в результате чего наблюдаются потери питательных веществ, увеличивается возможность распространения различных патогенных микроорганизмов и засоренности пашни. В связи с этим в Якутском НИИ сельского хозяйства проведены исследования по изучению эффективного обеззараживания и ускоренного производства органических удобрений с применением приемов биотехнологии с целью повышения плодородия почв, улучшения качества продукции и охраны окружающей среды.

Разработаны и внедрены экологически безопасные технологии производства компостов, биологически активных органических удобрений, что позволило эффективно обеззараживать навоз КРС и птичий помет с помощью местных штаммов бактерий *Bac. subtilis*. Сохраняются ценные качества органических удобрений.

Компост на основе навоза и помета, с добавлением биопрепарата «Фитонордбакт» на основе местных штаммов бактерий *Bac. subtilis* и биологически активное органическое удобрение, обогащенное местными штаммами бактерий *Bac, subtilis* и *Azotobacter* при внесении в мерзлотную почву улучшают их агрохимические свойства, оптимизируют почвенный микробиоценоз, усиливают продуцирование физиологически активных веществ и улучшают защитные функции растений. При этом увеличивается содержание гумуса на 0,5%, повышается урожайность картофеля до 44% по отношению к контролю, снижение болезней растений доходило до 14%.

Таким образом, приемы биотехнологии позволяют повышению урожайности, улучшению качества картофеля и сохранению плодородия почвы.

INVESTIGATING THE DIFFERENT DISINFECTION METHOD FOR SEED, ZYGOTIC EMBRYO AND MEGAGAMETOPHYTE TISSUE

Raheem Haddad, Mitra taghipoor, Maryam Ghannadnia
Agricultural Biotechnology Department, Faculty of Engineering & Technology,
Imam Khomeini International University, Qazvin, IR of Iran.
For correspondence: Raheem Haddad, E-mail: raheemhaddad@ikiu.ac.ir;
Tel: (+98) 281 837 1165, Fax: (+98) 281 378 0073.

Araucaria excelsa R. Br. is one of the *Araucariaceae* species. This is an evergreen tree that has been popular as an ornamental tree and also economically valuable for their wood quality. *In vitro* reproduction of such plant was one of the most important aims in the present research article. This study was investigated to optimize micropropagation reproductivity for seed, zygotic embryo and megagametophyte tissues applying disinfection methods. Thus, the concentration of Clorox (containing 5.25% sodium hypochlorite) and mercuric chloride in the time interval 2.5, 5, 10 and 20 minutes in hormone-free DCR medium was studied. The results illustrated that treatment with 3% sodium hypochlorite for 10 minutes is enough sufficient for disinfection of zygotic embryos and also megagametophyte tissue, while the treatment with Clorox 5% cause discoloration and tissue death. Such result is confirmed for the first time for such plant cultivar. In order to micropropagate the disinfected plant tissues using callus explants, they were transferred to callus induction medium. Its process to achieve complete reproductivity will be investigated.

Key words: *Araucaria excels*, Clorox, Zygotic embryos.

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ К ФУЗАРИОЗУ DH ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ

Турашева С.К.[1], Buerstmayr H[2].
[1]*Казахский Национальный университет им.аль-Фараби,*
факультет биологии и биотехнологии, НИИ проблем экологии,
Алматы, Аль-Фараби 71, 050040, Казахстан;
[2]*University of Natural Resources and Life Sciences,Vienna,*
Department for Agrobiotechnology, Institute for Biotechnologie in Plant Production,
Konrad Lorenzstrasse 20, A-3430 Tulln, Austria

Одним из самых опасных болезней мягкой пшеницы (Triticum aestivum L.) является фузариоз, возбудителем которого является Fusarium graminearum. В данном исследовании были изучены DH-линии пшеницы на устойчивость к болезни после инокуляции культуральной суспензией фитопатогенного гриба Fusarium graminearum (5 мкл суспензии конидий при концентрации 50,000 конидий /мл) в колоски пшеницы, находящихся в фазе цветения в контролируемых температурных условиях теплицы при 20°C. Были оценены пять высокоурожайных DH линий пшеницы (DH1 и DH2 поколения), полученные из гибрида Актюбинская 130xOtan (F1), а также исследованы родительские формы гибрида. Инокулирование проводили каждые 3 дня. По истечении 10 дней после инокуляции проводилась оценка степени устойчивости дигаплоидных линий пшеницы к грибной инфекции. Уровень устойчивости к фузариозу рассчитывался как средний процент инфицированных колосков в колосе.

В результате оценки было установлено, что среди изученных генотипов, наибольшую устойчивость к фузариозу имеет дигаплоидная линия G3-11-8, DH1 (9,52% пораженных колосков), затем по убыванию G3-06, DH1 (13%), DG 5-20 DH2 (14,37%, соответственно). Средний уровень устойчивости к болезни наблюдался у дигаплоида DG 5-17 (DH2, 16,18%). DH-линия DG 5-22 и сорт Актюбинская 130 имеют высокий процент восприимчивости к болезням и неустойчивы к метаболитам патогенного гриба-25,06% и 22,96%, соответственно. Гибридные линии и их родительские формы вариабельны по признаку резистентности к Fusarium graminearum. Визуальная оценка по устойчивости к фитопатогену показывает, что сорт Отан имеет более высокий уровень устойчивости к фузариозу (10,42% инфицированных колосков) по сравнению с сортом Актюбинская 130. Только две дигаплоидные линии DH1имеют такую же высокую степень устойчивости к фузариозу, как и в контрольном варианте.

EVALUATION OF RESISTANCE TO FUSARIUM HEAD BLIGHT OF WHEAT DH LINES

Turasheva S.K.[1], **Buerstmayr H.**[2]
[1]*Al-Farabi Kazakh National University, Department of Biotechnology,*
Institute of Ecology Problems, Almaty, Al-Farabi 71, 050040, Kazakhstan,;
[2]*University of Natural Resources and Life Sciences,Vienna,*
Department for Agrobiotechnology, Institute for Biotechnologie in Plant Production,
Konrad Lorenzstrasse 20, A-3430 Tulln, Austria

Fusarium Head Blight, caused by *Fusarium graminearum*, is one of the most destructive diseases of common wheat (*Triticum aestivum L.*). In this study were investigated resistance to disease after inoculation of a pathogenic fungus suspension of *Fusarium graminearum* (5 µL of conidia suspension at concentration of 50.000 Conidia/ml) in two spikelets per ear of wheat DH lines at the flowering stage in a controlled temperature conditions of greenhouse, at 20°C. It was evaluated five high yield DH lines (DH_1 and DH_2 generation), derived from hybrid (Aktubinskaya 130xOtan, F1) and their parents. Inoculation is carried out every 3 days. After 10 days of inoculation estimation of level of Fusarium Head Blight infection of wheat DH lines was started. Scoring was repeated several times. The Fusarium severity level was calculated as the average percent of *Fusarium* damaged spikelets per ear.

As a result of evaluation, it was found that among the studied genotypes, the greatest resistance to Fusarium has G3-11-8, DH_1 (9.52% infected by Fusarium spikelet's per ear), then ascending G3-06, (DH1, 13%), DG 5-20, (DH_2, 14.37% respectively). A middle level of resistance to disease has doubled haploid line DG 5-17 (DH_2, 16.18%). The fifth DH line DG 5-22 and cultivar Aktubinskaya 130 have a high percentage of susceptibility to disease and are unstable to the pathogenic fungus metabolites – 25.06% and 22.96%, respectively. Hybrid lines and their parents have different specter of variability of resistance to Fusarium graminearum. Visual scoring of resistance to Fusarium *graminearum* shows that the variety Otan has highest resistance level to disease (10.42%) infectioned spikelet's compared to cultivar Aktubinskaya 130. Only two DH1 lines have the same level of resistance as a control.

ПРИМЕНЕНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ШТАММОВ АССОЦИАТИВНЫХ РИЗОБАКТЕРИЙ ПРИ ВОЗДЕЛЫВАНИИ ЛЮЦЕРНЫ В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ

Яковлева М.Т., с.н.с., к. с-х. н.,
ГНУ Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства Россельхозакадемии
677001, г. Якутск, ул. Бестужева-Марлинского 23/1

В условиях биологизации земледелия особое внимание уделяется бобовым культурам, которые способны создавать биологический азот за счет своего симбиотического аппарата.

Нами изучены биопрепараты на основе штаммов клубеньковых бактерий и штаммов ассоциативных ризобактерий из Национальной коллекции ВНИИСХ микробиологии г. Санкт-Петербурга. Испытаны бактеризация семян люцерны в условиях мерзлотных почв.

В условиях мерзлотных таежных палевых осолоделых почв Центральной Якутии применение биопрепаратов на основе штаммов клубеньковых бактерий и штаммов ассоциативных ризобактерий способствуют повышению урожайности зеленой массы люцерны, улучшают деятельность симбиотического аппарата растений, повышает качество люцернового корма, снижают затраты на производство растительного белка.

Получены экспериментальные данные на старовозрастных посевах люцерны (посев и бактеризация штаммами клубеньковых бактерий произведена в 1997г., учет до 2012г.) на вариантах со штаммами ассоциативных ризобактерий в среднем прибавка урожайности от контроля – 6 т/га, – т/га, содержание сырого протеина 24,9% и сырой клетчатки 26,0%. При этом продуктивность инокулированной люцерны достигает 13,0 тыс. корм.ед с 1 га. Энергетическая питательность инокулированного люцернового корма отличалась повышенным содержанием обменной энергии 10 МДж в кг СВ, корм.ед. 0,81 и переваримого протеина в 1 корм. ед. до 191г.

Наибольшая масса активных клубеньков на корнях люцерны формировалась при инокуляции семян люцерны псевдомонасом и серацилом. (0,35 г/растение, на варианте без инокуляции 0,20 г/растение).

Применение биологического препарата на основе серацила обеспечивает получение условно чистого дохода до 11,0 тыс.руб/га, себестоимости 1 т корм.ед. – 1545рублей. При этом рентабельность производства люцернового сена составляет 36%.

ВЫЯВЛЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ С ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫМИ ПРИЗНАКАМИ ХЛОПЧАТНИКА

Юнусханов Ш., Абдуразакова З.Л.
Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз,
702151, Ташкентская обл., Кибрайский р-он, п/о Юкори-Юз, Узбекистан
E-mai:l yushavkat@yandex.com

Для хлопчатника были идентифицированы видоспецифичные белковые маркеры, обозначенные символами Н-0,13 у семян средневолокнистого вида *G.hirsutum L.* и В-0,18 у семян тонковолокнистого вида хлопчатника *G.barbadense L.*, а также система белковых маркеров, позволяющая отличать отдельные сорта средневолокнистого вида, обозначенные символами А, В, С, и Д.

Для исследования взаимосвязи белковых маркеров Н-0,13 и В-0,18 с хозяйственно-ценными признаками были использованы почти изогенные по этим маркерам линии хлопчатника.

Материалом исследования служили растения F_8-F_{12} реципрокных гибридов Карлик х С-6037 и С-6037 х Карлик. Родительские формы различались по белковым маркерам Н-0,13 и В-0,18. Результаты изучения высоты растений, количества коробочек и раскрываемости коробочек в зависимости от содержания белковых маркеров Н-0,13 и В-0,18 у полученных почти изогенных линий хлопчатника показали, что В-0,18 сибы отличаются от Н-0,13 сибов более высокими или низкими показателями признака высоты растений, а также по количеству коробочек. В-0,18 сибы при этом значительно превосходят Н-0,13 сибы, однако сильно отстают по раскрываемости коробочек от раскрываемости коробочек Н-0,13 сибов почти у всех изученных линий.

Таким образом изучение некоторых хозяйственно-полезных признаков у почти изогенных линий хлопчатника показало, что Н-0,13 и В-0,18 сибы отличаются между собою по высоте растений, по количеству коробочек на растении и по раскрываемости коробочек. Гетерозиготные по белковым маркерам группы растений проявили высокую по сравнению Н-0,13 и В-0,18 сибами раскрываемость коробочек у некоторых линий хлопчатника. Возможно, что гетерозиготное состояние полиморфных локусов, прямо или косвенно влияя на продуктивные качества растений приводит к гетерозису.

REVEALING OF INTERRELATION OF PROTEIN MARKERS WITH AGRICULTURAL VALUABLE TRAITS OF COTTON

Yunuskhanov Sh., Abdurazakova Z.L.
Institute of Genetics and Plant Experimental Biology, Uzbekistan Academy of Sciences,
702151, Tashkent province, Kybrai District, Yukori Yuz, Uzbekistan
E-mai: yushavkat@yandex.com

As a result of researches for cotton have been identified species specific protein markers, marked with H-0,13 in the seeds of middle length fiber of *G.hirsutum L.* species and B-0,18 in the seeds of *G.barbadense L.*, and also the system of protein markers, which enable differ separate varieties of middle length species, marked with A, B, C and D.

By researching the fiber quality in the F_3-F_8 populations of different reciprocal hybrids proved that, the protein markers H-0,13 and B-0,18 can be attached to the loci, controlling quality and length of fiber.

To study the interrelation of protein markers H-0,13 and B-0,18 with economically valuable traits have been used near isogenic by this marker lines of cotton. As a material of the study served plants F_8-F_{12} reciprocal hybrids Karlik x C-6037 and C-6037 x Karlik. Parental forms differed on protein markers H-0,13 and B-0,18. The results of study of plant height, boll number and boll opening depending on content of protein markers H-0,13 and B-0,18 in the obtained almost isogenic lines of cotton showed that B-0,18 sibs differed from that of H-0,13 with high or low traits of plant height, and also with bolls number. Hence B-0,18 sibs, however were active on boll opening than that of in H-0,13 almost in all surveyed lines.

Therefore, research of some economically valuable traits of almost isogenic lines of cotton showed that, H-0,13 and B-0,18 sibs were differed from each other on plant height, boll number per plant and boll opening. Heterozygotes on protein markers showed high boll opening. It is possible, that heterozygote condition of polymorphic loci, directly or indirectly influencing on productive quality of the plants, leads to heterosis.

ВЛИЯНИЕ ОГРАНИЧЕННОГО РЕЖИМА ПОЛИВА И ПРЕДПОСЕВНОЙ ЗАКАЛКИ СЕМЯН НА НЕКОТОРЫЕ ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ХЛОПЧАТНИКА

Юнусханов Ш., Кайнаров П..
Институт генетики и экспериментальной биологии растений АН РУз,
702151, Ташкентская обл., Кибрайский р-он, п/о Юкори-Юз, Узбекистан
E-mai:l yushavkat@yandex.com

Были проведены исследования по изучению влияния ограниченного полива и предпосевной закалки семян на некоторые признаки урожайности пяти образцов гермоплазмы и пяти промышленных сортов хлопчатника(А-1458, А-2323, А-2739, А-3372, А-3379 и АН-Баяут-2, Бухаро-6, С-6524, Омад, Ташкент-6). При ограниченном режиме полива в зависимости от погодных условий года полив сокращали от 1,5 до 2 кратно по сравнению с нормальным поливом. Образцы гермоплазмы и различные сорта хлопчатника проявили различную реакцию при различном режиме полива, проявляющуюся на признаках высоты растения и количества коробочек. По полученным данным образцы А-2323, А-3379 и сорта АН-Баяут-2, Омад, Ташкент-6 проявили высокий показатель, а образцы А-1458, А-2739 и А-3372 низкий показатель высоты растения при ограниченном поливе. Во всех случаях, при ограниченном поливе, наблюдалось резкое увеличение количества коробочек на растении.

В опытах по предпосевному закаливанию семян получены данные свидетельствующие о влиянии такой закалки на рост растений образцов А-1458, а-2379, А-2739, А-3372, А-3379 и сортов Омад Бухаро-6, Ташкент-6, а также на увеличение количества коробочек, в особенности у сортов Ташкент-1 и Омад. Наблюдался при этом увеличение количества коробочек у отдельных образцов и сортов хлопчатника более чем в 2 раза. В режиме ограниченного полива почти у всех изученных образцах и сортов хлопчатника увеличился количество раскрывшихся коробочек по сравнению с их возделыванием при нормальном режиме полива.

INFLUENCE OF LIMITED IRRIGATION REGIME AND PRESOWING HARDENING OF THE SEEDS FOR SEVERAL ECONOMICAL VALUABLE TRAITS OF COTTON PLANT

Yunuskhanov Sh., Kaynarov P.
Institute of Genetics and Plant Experimental Biology of AS RUz.
702151, Yukori-yuz, Kibray district, Tashkent region, Uzbekistan.
E-mai:l yushavkat@yandex.com

It was conducted investigation on studying of influence of limited watering and presowing hardening of seeds on several traits of productivity of 5 samples of germplasm and 5 commercial varieties (A-1458, A-2323, A-2739, A-3372, A-3379 и AN-Bayaut-2, Bukhara-6, C-6524, Omad, Tashkent-6). On limited regime of the watering depending on weather conditions of the year watering decreased from 1.5 to 2.0 times by comparing with normal watering. Germplasm samples and different cotton plant varietis showed different reactions on different wateriung regime, resulting in plant height and bolls quantity traits. According to results samples A-2323, A-3379 and varieties AN-Bayaut-2, Omad, Tashkent-6 showed high marks, but samples A-1458, A-2739 and A-3372 showed low marks on height of the plants in limited waterings. In all cases, in limited atering, observed sudden increasing of quantity of bolls in a plant.

In the experiments on presowing hardening of the seeds obtained results indicating about influencing of that hardening to height of the plants of the samples A-1458, A-2379, A-2739, A-3372, A-3379 and varieties Omad, Bukhara-6, Tashkent-6, also to increasing of bolls quantity, especially in varieties Tashkent-1 and Omad. Observed it that increasing numbers of bolls in separate samples and varieties

of cotton plant more than two times. In the regime of limited watering almost in all studies samples and varieties of cotton plant increased numbers of opening bolls on comparing with their cultivation in normal watering regime.

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ СЕЛЕКЦИОННОЙ ЦЕННОСТИ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА САХАРНОЙ СВЁКЛЫ (*BETA VULGARIS* L.)

Жужжалова Т.П., Федулова Т.П., Черкасова Н.Н., Васильченко Е.Н., Федорин Д.Н., Хуссейн А.С., Богачева Н.Н., Налбандян А.А.
ГНУ Всероссийский научно- исследовательский институт сахарной свеклы им. А.Л. Мазлумова Россельхозакадемии,
396030, Воронежская обл., Рамонский район, п. ВНИИСС д.86,
E-mail: biotechnologiya@mail.ru

Приоритетным направлением при создании гибридов сахарной свёклы является получение исходного материала с высокой продуктивностью. При гибридизации 33 комбинаций скрещиваний выявлена генетическая изменчивость гибридного потомства, заключающаяся в различной частоте встречаемости аллелей произвольных локусов генома: PAWS 5, 6, 16 и 17. Установлено, что увеличение генетических расстояний между родительскими формами способствует повышению продуктивности гибридов и позволяет подбирать родительские компоненты для скрещиваний на основе молекулярных критериев.

Повышению устойчивости к стрессовым факторам внешней среды способствует физиологическая адаптация растений в культуре *in vitro*. Двукратное пассирование в условиях солевого стресса дало возможность повысить степень устойчивости микроклонов до 66,0-81,7%. Использование праймеров PAWS 6 и 16 позволило выявить генетические отличия устойчивых растений, заключающиеся в присутствии/отсутствии соответствующих ДНК-фрагментов. Возможно, устойчивость к засолению данных линий обусловлена адаптацией к стрессовым условиям или точечными мутациями, индуцированными выращиванием на селективных средах. Проведение генетической трансформации с использованием векторных конструкций с генами mf2 и mf3, контролирующими неспецифическую устойчивость к фитопатогенам, позволило создать и отобрать с помощью ПЦР-анализа 4 трансгенные линии с геном mf2 и 9 линий с геном mf3. Выявлен полиморфизм 12 микросателлитных локусов ДНК (Smulders et al., 2010), специфических для сахарной свёклы, и составлены индивидуальные генетические паспорта, представленные в виде своеобразного штрих-кода. Таким образом, использование ДНК-маркеров значительно ускоряет процесс создания и отбора перспективных форм для селекции.

MOLECULAR AND GENETIC CRITERIA OF BREEDING VALUE OF SUGAR BEET (*BETA VULGARIS* L.) STARTING MATERIAL

Zhuzhzhalova T.P., Fedulova T.P., Cherkasova N.N., Vasilchenko E.N., Fedorin D.N., Hussein A.S., Bogachova N.N., Nalbandyan A.A.
State Research Organization "The A.L.Mazlumov All-Russian Research Institute of Sugar Beet" of Russian Agricultural Academy,
396030, Voronezh region, Ramonsky district, 84, VNIISS,
E-mail: biotechnologiya@mail.ru

When developing sugar beet hybrids, the priority direction is to obtain starting material with high productivity. When hybridizing 33 combinations, there has been revealed genetic variability of hybrid

progeny consisting in different frequency of occurrence of alleles of the genome random loci: PAWS 5, 6, 16 and 17. It has been determined that increase of genetic distances between parental forms promotes higher productivity of hybrids and allows selection of parental components for crossings based on molecular criterions.

Physiological adaptation of *in vitro* cultivated plants stimulates resistance to stress factors. Double passage under salt stress conditions has enabled increase of microclone resistance level to 66.0-81.7%. Use of the PAWS 6 and 16 primers has allowed revealing genetic differences of resistant plants that is presence/absence of corresponding DNA-fragments. Perhaps, resistance of these lines to salinization is caused by adaptation to stress conditions or point mutations induced by growing on selective media. Conduction of genetic transformation using vector constructions with mf2 and mf3 genes that control non-specific resistance to phytopathoges has made it possible to create 4 transgenic lines with mf2 gene and 9 lines with mf3 gene, and select them by PCR-analysis. Polymorphism of 12 DNA microsatellite loci (Smulders et al., 2010), specific for sugar beet, has been revealed, and individual genetic passports presented as a peculiar bar-code have been made. Thus, use of DNA-markers considerably hastens development and selection process of perspective form for breeding.

ЗАСЕДАНИЕ В РАМКАХ СЕКЦИИ «БИОТЕХНОЛОГИЯ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ»

SESSION IN THE FRAME OF THE SECTION "BIOTECHNOLOGY IN ANIMAL BREEDING"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ХЛОРЕЛЛЫ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ

Богданов Н.И.
ООО «БиоРесурс»,
Россия, Тверь, Московская 26

Разработана биотехнология культивирования и практического использования суспензии хлореллы на основе планктонных штаммов Chlorella vulgaris ИФР № С-111 и Chlorella vulgaris BIN для получения дополнительной мясной и молочной продуктивности, сохранности молодняка, повышения общей резистентности, репродуктивности и стимуляции обменных процессов сельскохозяйственных животных.

В принципе, создание сбалансированного кормления, является дополнение уже имеющихся в хозяйствах рационов – суспензией хлореллы, обладающей высокой биологической активностью. Возможность получения такого корма с низкой себестоимостью, при более высокой эффективности, ставит её вне конкуренции не только по всем экономическим параметрам, но также по экологической чистоте и качеству получаемой животноводческой продукции.

В настоящее время разработаны практические рекомендации по использованию суспензии хлореллы в животноводстве для реализации задачи значительного увеличения рентабельности в хозяйствах всех форм собственности, различного масштаба и во всех направлениях животноводства.

Разработана новая биотехнология получения суспензии хлореллы, на основе которой созданы модульные установки – культиваторы хлореллы, простота конструкции которых позволяет их использовать непосредственно в животноводческих хозяйствах.

Высокая биологическая активность использующихся штаммов за короткий промежуток скармливания животным суспензии хлореллы позволяет достигнуть значительных привесов и высокую сохранность поголовья молодняка, повысить молочную продуктивность, улучшить репродуктивные свойства, получать жизнеспособное потомство.

Нет такой отрасли животноводства, где применение суспензии хлореллы не оказало бы благотворного влияния. Поэтому использование хлореллы должно стать для России одним из приоритетных направлений при современном развитии животноводства.

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS OF USE *CHLORELLA* IN ANIMAL HUSBANDRY

Bogdanov N.I.
Limited Liability Company «BioResurs»,
Russia, Tver, Moskovskaya str, 26

The biotechnology of cultivation and practical use of chlorella suspension on the basis of plaktonic strains Chlorella vulgaris IFR № C-111 and Chlorella vulgaris BIN is developed for obtaining ad-

ditional and dairy efficiency, safety of young growth, increased of general resistance, a reproductive performance and stimulation of exchange processes of agricultural animals.

In principal, creation of the balanced feeding is addition of diets already available in farms – chlorella suspension, possessing high biological activity. Possibility of receiving such forage with low itself cost, at higher efficiency, puts it out of competition not only on all economic parameters, but also on ecological purity and quality of received livestock production.

Now practical recommendations about chlorella suspension use in animal husbandry are developed for realization of a problem of significant increase in profitability in farms of all forms of ownership, various scales and in all directions of animal husbandry.

The new biotechnology of receiving chlorella suspension on the basic of which modular installations – chlorella cultivator's which simplicity of a design allows using them directly in livestock farms are created is developed.

High biological activity of being used strains for a short interval of feeding by an animal of chlorella suspension allows reaching considerable additional weights and high safety of a livestock of young growth, to increase dairy efficiency, to improve reproductive properties, to receive viable posterity.

There is no such branch of animal husbandry where chlorella suspension application wouldn't have beneficial impact. Therefore use chlorella has to become for Russia one of priority directions at modern development of animal husbandry.

ГЕНОМИКА В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМ ЖИВОТНОВОДСТВА

Глазко В.И.

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, 127500, ул. Тимирязевская, 49, vglazko@yahoo.com

Развитие молекулярной биологии, в частности, молекулярной генетики, привело к изменениям в поисках новых методов лечения, увеличения точности «адресовки» терапевтических средств, коррекции патологических изменений метаболома, клеточной терапии. В связи с методами секвенирования геномов активно развивается направление поисков биомаркеров, контроль которых мог бы позволить предсказывать продуктивность животных, устойчивость организмов не только к инфекционным заболеваниям, но и к другим, абиотическим, неблагоприятным факторам окружающей среды. Геномное сканирование с.-х. видов широко используется для решения следующих задач: определение параметров изменчивости внутри и между породами; получение информации об эволюционных взаимоотношениях (филогенетические деревья) и выяснение центров происхождения и маршрутов миграции пород; осуществление картирования генов, включая идентификацию носителей известных аллелей генетически детерминированных заболеваний и/или ассоциированных с повышенной устойчивостью к инфекционным и неинфекционным заболеваниям; поддержка генетического улучшения популяций животных с помощью маркеров «маркерная селекция»; создание ДНК-хранилищ в целях исследований и хранения генетических ресурсов. Благодаря развитию методов геномного сканирования появился новый термин – «геномная селекция», который привлек особое внимание в молочном скотоводстве. В то же время, недостаточная изученность структурно-функциональной организации геномов, сетевых взаимосвязей между разными генетическими элементами внутри геномов и факторами окружающей среды часто приводит к переоценке возможностей геномной селекции в сельском хозяйстве. Для увеличения эффективности таких разработок критическим становится взаимодействия между исследователями различных фундаментальных биологических процессов как в масштабе биомолекул, так и селекционеров широкого профиля.

GENOMICS IN RESOLVING OF PROBLEMS OF ANIMAL BREEDING

Glazko V.I.
Russian State Agrarian University – MTAA,
Moscow, 127550, Timirjazevsky street, 49

Development of molecular biology, in particular, molecular genetics, led to changes in searches of new methods of treatment, increase in accuracy of "addressing" of therapeutic means, correction of metabolome pathological changes, cellular therapy. Due to the methods of genome sequences the direction of searches of the biomarkers develops actively which could allow predicting the productivity of animals, resistance of them not only to infectious diseases, but also to other, abiotic, adverse factors of environment. Genomic scanning of farm animals is widely used for the solution of the following tasks: determination of parameters of variability inside and between breeds; obtaining information on evolutionary relationship (phylogenetic trees) between them and clarification of the centers of their origin and ways of animal migration; implementation of mapping of genes, including identification of carriers known alleles of genetically determined diseases and/or associated with the increased resistance to infectious and noninfectious diseases; support of genetic improvement of populations of animals by means of using of "marker selection"; creation of DNA storages for researches and storage of genetic resources. Thanks to development of methods of genomic scanning a new term – "genomic selection" was appeared which drew special attention in dairy cattle breeding. At the same time, insufficient study of the structurally functional organization of genomes, network interrelations between different genetic elements in genomes and environment factors often leads to overestimation of opportunities of genomic selection in agriculture. For increase in efficiency of such development the interactions between researchers of various fundamental biological processes, including on the scale of biomolecules, and breeders of wide profiles get the critical importance.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВИТРИФИКАЦИИ ПРИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ ЭМБРИОНОВ КОРОВ-ДОНОРОВ

Горбунов Ю.А.
УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
230008, Беларусь, г. Гродно, ул. Терешковой, 28.

Целью исследований явилось совершенствование технологии криоконсервации эмбрионов коров-доноров с использованием высококонцентрированных защитных сред и процесса витрификации.

При проведении научных исследований замораживание эмбрионов полученных от коров контрольной группы (n=38), осуществляли с использованием замораживателя DBI (Англия). Для опытной группы (n=34) разработан и использован состав высококонцентрированной защитной среды, что обеспечивало проведение заморозки эмбрионов в ускоренном режиме, без применения программного замораживателя по специальной методике (И.П. Шейко, Ю.А.Горбунов [и др.] // Патент № 9315 Национальный центр интелектуальной собственности РБ. – Минск, 2007.- С. 48).

Коровы-доноры и телки-реципиенты находились в равных условиях кормления и содержания. Из полученных данных следует, что количество стельных реципиентов в обеих группах различалось незначительно и составило 47,4% в контрольной и 44,1% в опытной группах. При этом в сравнении с аналогом, способ ускоренного замораживания с использованием высококонцентрированных защитных сред и процесса витрификации позволяет сократить время одного этапа криоконсервации с 80 минут до 6, то есть в 13 раз (P<0,01), при снижении стоимости

в размере 3 долл. в на каждые 10 эмбриональных пересадок (цена замораживателя марки DBI 14 тыс. долл. США).

Таким образом, результаты проведенных исследований дают основание утверждать, что применение способа криоконсервации эмбрионов с использованием высококонцентрированных защитных сред и процесса витрификации позволяет снизить стоимость эмбрионов за счет отсутствия необходимости применения дорогостоящего импортного программного замораживателя. При этом мероприятие по использованию разработанного способа при получении ремонтных телок для нужд хозяйства и бычков для племпредприятий, является перспективным посредством создания криобанка ценных генотипов и относится к импортозамещающим. По сравнению с общепринятой технологией сокращается длительность замораживания, а также снижается стоимость эмбриональных пересадок.

КЛЕТОЧНЫЕ И ГЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ИНТЕНСИФИКАЦИИ ЖИВОТНОВОДСТВА

Косовский Г.Ю.
ГНУ Центр экспериментальной эмбриологии
и репродуктивных биотехнологий РАСХН,
Россия, Москва, e-mail: info@ceerb.ru

Проблемы ускоренного развития животноводства известны достаточно давно, однако приближение к их эффективному решению стало возможно только с развитием клеточных и генных биотехнологий. К основным из них относятся необходимость предупреждения распространения инфекционных заболеваний, оценка общего и репродуктивного здоровья животных, оптимизация использования имеющегося у них генетического потенциала и создания нового. В этой связи в Центре экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий (ЦЭЭРБ) РАСХН разрабатывается комплекс клеточных и генных тестирующих систем, позволяющий проводить индивидуальную оценку перечисленных параметров у животных и дифференциально их использовать для решения задач получения конечной животноводческой продукции с желательными свойствами.

В целях предупреждения распространения заболеваемости лейкозом у молочного скота разработана новая система праймеров с внутренним положительным контролем для выявления провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота, выполнено сравнение эффективности их использования с другими ДНК методами, обоснованы их преимущества. В отношении контроля репродуктивного здоровья коров для ранней диагностики фаз овуляторного цикла и стельности на ранних сроках разработан прибор для измерения электрической проводимости влагалищной слизи и температуры животного, позволяющий подбирать оптимальные сроки для искусственного оплодотворения и оценивать сервис период у коров. Экспериментально доказано преимущество прибора по сравнению с имеющимися аналогами.

Выполнен комплекс исследований по оптимизации элементов технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. Разработаны культуральные системы, уменьшающие гибель и увеличивающие количество дозревших ооцитов *in vitro*, а также эффективность их оплодотворения с последующей приживляемостью эмбрионов.

Для увеличения эффективности использования имеющегося генетического потенциала животных в Центре отработаны методики ДНК генотипирования ряда структурных генов, оказывающих прямое влияние не столько на количество, сколько на качество конечной животноводческой продукции, таких как казеины и лактоглобулины молока крупного рогатого скота, ряд генов контроля липидного обмена, а также таких системных регуляторов, как лептин и соматотропный гормон. В целях создания наиболее удобных и малозатратных тест-систем для

исключения ошибок происхождения животных, а также прогноза потенциальных гетерозисных эффектов при удаленных межлинейных и межпородных скрещиваниях выполнено геномное сканирование ряда пород крупного рогатого скота, овец с использованием таких ДНК маркерных систем, как ISSR-PCR и IRAP-PCR. Получены данные, свидетельствующие о наличии групп-специфичных сочетаний ДНК маркеров у исследованных животных.

В целях создания нового генетического потенциала у сельскохозяйственных видов животных, в частности, получения животных «биореакторов» – продуцентов фармакологически важных белков человека, в Центре разработаны методы получения стволовых эмбриональных клеток крупного рогатого скота, исследованы влияния на них различных условий культивирования, подобраны условия и вектора для их трансгеноза. Параллельно в Центре отрабатываются методы спермий-опосредованной доставки экзогенной ДНК в ооциты крупного рогатого скота.

Большинство разработанных технологий могут быть непосредственно включены в практическую работу с такими видами, как крупный рогатый скот, овцы.

CELL AND GENETIC TECHNOLOGIES IN THE INTENSIFICATION OF LIVESTOCK PRODUCTION

Kosovsky G.Yu.
Centre of experimental embryology and reproductive biotechnology
Russian Academy of Agricultural Sciences
127422, Moscow, ul. Kostyakova, d. 12, str. 4, Russia
e-mail: info@ceerb.ru

Problems of livestock production intensification are well-known in agricultural sciences. However effective solutions for those problems started to emerge only with development of cell and gene biotechnology. The following major problems in animal breeding still remain: necessity to prevent spread of infectious diseases, general and reproductive animal health evaluation, optimized use of their genetic potential and creation of a new genetic potential. Considering this, a complex of cell and gene test systems is being developed in the Centre of experimental embryology and reproductive biotechnology Russian Academy of Agricultural Sciences. These systems allow to carry out individual evaluation of the animal health parameters and to use them differentially for problem solving in production of the livestock with desired qualities.

A new primer kit was developed to prevent spread of leukosis in diary cattle. It includes inner positive control to detect proviral DNA of bovine lykosis virus (BVL). The effectiveness of the kit was compared with other DNA methods, and its' advantages were validated. A special (KROSS-12) device was developed for monitoring of bovine reproductive health, early diagnostics of ovulation and pregnancy. It measures electric conductivity of vaginal mucus and bovine body temperature, which allows to select optimal time for the artificial insemination and to evaluate service period of the animals. The advantages of the device were proved experimentally.

In addition, a comprehensive complex of investigations was conducted to optimize elements transplantation technology and embryo culture *in vitro*. Developed embryo culture system allowed to decrease oocyte mortality rates and increase the number of *in vitro* matured oocytes. It also increased their ability to fertilize *in vitro* and tobe successfully transferred in future.

To solve problem of effective use of bovine genetic potential, genotyping methods were developed for several specific sets of genes: structural genes, which are more responsible for qualitative, than quantitative characteristics of the livestock, for example, caseins and lactoglobulines, genes responsible for lipid exchange, and hormonal regulators such as leptin and somatotrophic hormone. Based on this, genomic scanning for a number of bovine and ovine lines was done using DNA marker systems,

such as ISSR-PCR and IRAP-PCR, to create convenient and cheap test systems, which would allow to avoid errors of animal origin and to predict potential heterosis effects during crossbreeding . The acquired data indicated that there was group-specific DNA markers for tested animals.

To create new genetic potential for livestock species, in particular, to create bioreactors that will be able to produce human proteins important for pharmacology , methods for obtaining bovine ESC were developed. Different conditions of cell cultivation were investigated. Conditions and vectors for were selected for ESC transgenesis. In addition, there is active development of bovine oocytes SMGT method.

Most of the developed technologies can be directly incorporated into practical work concerning bovine and ovine reproductive biology.

МЕТОД УВЕЛИЧЕНИЯ СРОКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СРЕДЫ SOF С ЦЕЛЬЮ УПРОЩЕНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИИ ЭТАПА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА *IN VITRO*

Маленко Г.П., Корниенко Е.В.
ГНУ Центр экспериментальной эмбриологии
и репродуктивных биотехнологий Россельхозакадемии,
отдел экспериментальной эмбриологии
127422, Москва, ул. Костякова, д. 12, Россия. E-mail: galina_malenko@mail.ru

Срок использования среды SOF (Tervit et al., 1972) составляет 1–2 недели при хранении при 4°C (Sirard and Coenen, 2006). При замораживании или лиофилизации SOFaaci с целью длительного хранения снижается ее способность обеспечивать развитие эмбрионов крупного рогатого скота (de la Varga et al., 2011). По данным Stewart-Savage and Bavister (1988) качество химически определенных сред, содержащих 25 mM $NaHCO_3$, снижалось с увеличением срока их хранения как при 5, так и при –20°C. Авторы отметили, что в процессе хранения все среды защелачивались, а снижение качества среды коррелировало с увеличением pH, что могло происходить вследствие конверсии бикарбоната в CO_2 и его утечки.

Мы приготовили основу среды mSOF, которая включала соли неорганических кислот, кроме $NaHCO_3$, лактат натрия, феноловый красный и хранили ее при 4°C в течение 0–2 недель (группа 1), 1 месяца (группа 2) и 2 месяцев (группа 3). В процессе хранения pH основы среды оставался на уровне 4,8. Перед использованием к основе среды mSOF добавляли $NaHCO_3$, Na пируват, L-глутамин, аминокислоты и 5% FCS. В возрасте десяти суток стадии бластоцисты в группе 1 достигало 32,1±3,9%, группе 2 – 33,6±2,1%, и в группе 3 – 38,7±2,0% зигот, из блестящей оболочки вылупилось 77,8±5,8%, 68,1±3,3% и 67,7±11,1% общего количества бластоцист, полученных в этих группах, соответственно. Достоверных различий по уровню развития одноклеточных эмбрионов в возрасте 7, 8 и 10 суток между экспериментальными группами не обнаружено.

Таким образом, было показано, что основа среды mSOF без бикарбоната натрия может храниться при 4°C в течение двух месяцев. Использование основы среды в сочетании со стоковыми растворами других компонентов позволяет значительно упростить процесс подготовки рабочей среды и стандартизировать условия культивирования эмбрионов в серии экспериментов.

A METHOD TO INCREASE SOF MEDIUM'S PERIOD OF USE FOR SIMPLIFICATION AND STANDARDIZATION OF BOVINE EMBRYO CULTIVATION STAGE *IN VITRO*

G.P. Malenko, E.V. Kornienko
Centre of experimental embryology and reproductive biotechnology
Russian Academy of Agricultural Sciences.
127422, Moscow, ul. Kostyakova, d. 12, Russia. E-mail: galina_malenko@mail.ru

Synthetic oviduct fluid (Tervit et al., 1972; SOF) is prepared directly before the experiment in the laboratory and stored for no more than 1 or 2 weeks at 4°C (Sirard and Coenen, 2006). When SOFaaci was frozen or lyophilized for the sake of storage period prolongation and then reconstituted, medium's ability to support the development of bovine embryos *in vitro* was reduced (de la Varga et al., 2011). In the study by Stewart-Savage and Bavister (1988), quality of the defined culture media with 25 mM $NaHCO_3$ was dropping at both 5 and at –20°C as the storage period increased. It was noted, that all media have become more alkaline during preservation process. The decrease in media quality correlated with the increase in the pH. In authors' opinion, the rise in the pH of media could have been the result of bicarbonate to CO_2 conversion and subsequent dissipation into the atmosphere.

We prepared mSOF medium base, which included salts of inorganic acids, except for $NaHCO_3$, Na lactate and phenol red. The base was stored at 4°C for 0–2 weeks (Group 1), 1 month (Group 2) and 2 month (Group 3). During the storage period medium's pH remained at the level of 4.8. $NaHCO_3$, sodium pyruvate, L-glutamine, aminoacids and 5% FCS were added to mSOF base directly before the experiment. At the age of 10 days 32.1±3.9% bovine zygotes in Group 1, 33.6±2.1% bovine zygotes in Group 2 and 38.7±2.0% bovine zygotes in Group 3 reached the blastocyst stage of development. At the same time 77.8±5.8%, 68.1±3.3% and 67.7±11.1% of the blastocysts in each group hatched. No reliable differences in development rate between experimental groups were found at the ages of 7, 8 and 10 days post IVF.

Thus, it was shown that mSOF base without sodium bicarbonate could be stored for two month at 4°C. The utilization of such base in combination with the stock solutions of other components can lead to a significant simplification of handling medium preparation process and standardization of embryo culture conditions in a set of experiments.

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПРОТИВОХЛАМИДИОЗНОЙ ВАКЦИНЫ

Нигьматуллина Д.И.
младший научный сотрудник сектора по производству лечебных средств
ФГБУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной
и биологической безопасности» (ФГБУ «ФЦТРБ-ВНИВИ»)
420075, Республика Татарстан, г.Казань, Научный городок-2
vetvrach-vnivi@mail.ru vnivi@mail.ru Телефон: (843) 2395320 Факс: (843) 2397133

Учитывая, что существующие вакцины против хламидиоза рогатого скота недостаточны иммуногены ввиду слабой антигенности используемых вакцинных штаммов, нами были проведены исследования по усовершенствованию технологии изготовления противохламидиозных вакцин. Для этого мы смешивали неполный адъювант Фрейнда (НАФ) с водной средой в тех же пропорциях что и ISA-70 (7:3). Это позволило уменьшить количество эмульгатора в составе адъюванта и тем самым понизить его местную реактогенность. В связи с этим перед нами стояла задача – создать на основе такого адъюванта вакцину и сравнить её с аналогами на основе НАФ и ISA. Биомассу для полиштаммовой вакцины против хламидиоза крупного рогатого

скота получали на основе 3-х штаммов хламидий: «СК» – возбудителя конъюнктивита телят, «МЗ» – возбудителя менингоэнцефалита КРС и «250» – возбудителя аборта коров. Все штаммы депонированы в «ВГНКИ» и стандартизированы согласно СТО 00492374-004-2008.

Антигенную активность и местную реакцию на введение биопрепаратов проверяли на морских свинках, клинически здоровых, массой 350 – 400 г. 16 морских свинок разделили на 4 равные группы, 3 из которых вакцинировали внутримышечно в дозе 0,5 см^3 разными вариантами вакцин, а 4 группу не вакцинировали и держали в качестве контроля. После вакцинации проводили ежедневную термометрию и клинический осмотр свинок. Через месяц сыворотки крови опытных и контрольных свинок исследовали в РСК для определения уровня специфических антител. Изучение антигенной активности трех образцов вакцины показало существенные различия в титрах вырабатываемых комплементсвязывающих антител. Так, в ответ на введение вакцины изготовленной на основе НАФ у морских свинок вырабатывался сравнительно высокий уровень антител. Средний титр по этой группе составил 1:27,5. Несколько ниже титр антител был в группе морских свинок иммунизированных вакциной на основе УНАФ – 1:12,5. Наименьшую антигенную активность проявил биопрепарат изготовленный на основе ISA-70. Средний титр антител у животных в этой группе был на уровне 1:7,5. У контрольной группы морских свинок специфических антител к хламидийному антигену выявлено не было.

Наблюдения, проводимые за вакцинированными и контрольными свинками в течение опыта, не выявляли клинических признаков ухудшения состояния после прививки. Температурных реакций на введение вакцин также не наблюдали. На месте введения вакцины изготовленной на основе НАФ у морских свинок наблюдалось небольшое уплотнение, которое постепенно исчезло к концу срока наблюдения. Установлено, что наиболее оптимальными показателями, удовлетворяющими всем требованиям по вязкости, реактогенности и антигенной активности обладала вакцина, изготовленная на основе УНАФ. Она не обладала реактогенностью, показатели её вязкости были близки к препарату, изготовленному на основе ISA-70, а антигенная активность была выше, хотя уступала по этому показателю вакцине на основе НАФ.

IMPROVEMENT OF PRODUCTION TECHNOLOGY ANTICHLAMYDIOSIS VACCINE

Nigmatullina D.I.,
VNIVI, Tatarstan, Kazan

Abstract: Considering that existing vaccines against cattle chlamydiosis are insufficient immunogenic in view of a weak antigenic of used vaccine strains, we have carried out research on the improvement of the manufacture technology of antichlamydiosis vaccines. For this purpose we mixed the Freund's incomplete adjuvant (FIA) with the water in the same proportions as the ISA-70 (7:3). This is allowed to reduce amount of emulsifier as a compound of adjuvant and therefore to decrease local reactogenicity. In this regard we were faced by a task – to create a vaccine on the basis of such adjuvant and to compare it to analogs on the basis of FIA and ISA. Biomasses for polystrains vaccine against cattle chlamydia were obtained on the basis of 3 strains of chlamydia: «SK» – the infection agent of conjunctivitis calves, «MZ» – the infection agent of meningoencephalitis cattle and «250» – the infection agent of abortion cows. All strains are deposited at "VGNKI" and standardized according the standard 00492374-004-2008.

Antigenic activity and local reaction introduction of biological preparation checked on the Guinea pigs who are clinically healthy, 16 Guinea pigs weighing 350 - 400 g divided into 4 equal groups, 3 from which vaccinated intramuscularly in a dose of 0,5 cm^3 different options of vaccines and the 4th group did not vaccinate and kept in quality of control. After, vaccination carried out daily thermometry and clinical examination of pigs. In a month of serum of blood of skilled and control pigs investigated

in for definition complement fixation test of level of specific antibodies. Studying of antigenic activity of three samples of a vaccine showed essential distinctions in titre of developed complement-binding antibodies. So, in reply to introduction of a vaccine made on the basis of FIA at Guinea pigs rather high level of antibodies was developed. The average titre on this group made 1:27,5. A few below the titre of antibodies was in the group of Guinea pigs immunized with the vaccine on the basis of IFIA – 1:12.5 The least antigenic activity was shown by a biological preparation made on the basis of ISA-70. The average titre of antibodies at animals in this group was up to level 1:7, 5. In the control group of Guinea pigs specific antibodies chlamydial antigen was not found.

Observations conducted by the vaccinated and control pigs in the course of the experiment, is not revealed clinical signs of deterioration after vaccination. Temperature reactions to the vaccines also not observed. On the place of the introduction of the vaccine produced on the basis of the FIA in Guinea pigs, there was a small seal, which gradually disappeared by the end of the observation period. It is established, that the most optimal characteristics, satisfying all the requirements for the viscosity, reactogenicity and antigenic activity had the vaccine produced on the basis of IFIA. It did not have a reactogenicity and the indicators of its viscosity were close to the drug, produced on the basis of ISA-70, and antigenic activity was higher, although inferior to the terms of this indicator the vaccine on the basis of the FIA.

Keywords: Chlamydia, emulsion vaccine, adjuvant, antigenic activity.

НОВЫЕ ОРИГИНАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ, МЕТОДЫ И ПРИБОРЫ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ МИКРОХИРУРГИЧЕСКОЙ РЕКОНСТРУКЦИИ ПРЕДИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНОВ ЖИВОТНЫХ. ДОСТИЖЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ

Никитин В.А.[1,2], **Фесенко Е.Е.**[1]
[1]*Институт биофизики клетки РАН,*
[2]*Институт биологического приборостроения РАН,*
г. Пущино, Московской обл., 142290, Россия vnikitin2001@rambler.ru

Многие проблемы биотехнологии приводят к необходимости непосредственно работать с предимплантационными эмбрионами животных. Это позволяет подойти к решению ряда принципиальных вопросов биологии развития, молекулярной биологии, биофизики клетки и, главным образом, биотехнологии. Наибольший интерес вызывают проблемы, связанные с реконструкцией эмбриональных клеток млекопитающих. Реконструкция эмбриональных клеток, по существу, включает в себя задачу изучения механизмов реализации генетической информации, обеспечивает эффективный стратегический подход к получению животных с заданными свойствами, консервации генетических ресурсов. Это направление исследований призвано решить такие важные задачи, как выяснение реальной тотипотентности генома клеток разного уровня дифференцировки и способности геномов к репрограммированию; получение гибридных животных и межвидовых химер путем искусственного слияния геномов и создания реконструированных зигот и ранних эмбрионов; исследование подходов к получению отцовских и материнских копий, или клонированию.

В докладе представлены новые и усовершенствованные приемы и устройства, которые позволяют стандартизовать способы фиксации эмбрионов при проведении микрооперации, сводя к минимуму возможность нанесения им повреждений. Особое внимание уделено повреждающим факторам, к сожалению, не замечаемым в различных работах по реконструкции клеток. Подробно рассматриваются возможности надежного и успешного микроманипулирования при проведении микрохирургии клетки в специальной микрокамере открытого типа. Целью работы

являлось изучение факторов, лимитирующих процесс реконструкции ранних эмбрионов млекопитающих и совершенствование основных этапов технологии микрохирургии.

NEW ORIGINAL APPROACHES, METHODS AND INSTRUMENTATION FOR EFFECTIVE MICROSURGICAL RECONSTRUCTION OF PREIMPLANTATION EMBRYOS OF ANIMALS ACHIEVEMENTS AND CHALLENGES

Nikitin V.A.[1,2], **Fesenko E.E.**[1]
[1]*Institute of Cell Biophysics of RAS,*
[2]*Institute of Biological Instrumentation of RAS,*
Pushchino, Moscow Region., 142290, Russia
vnikitin2001@rambler.ru

Many problems of biotechnology lead to the need of working directly with the preimplantation embryos of animals. This allows you approaching to a number of fundamental questions of developmental biology, molecular biology, biophysics, cell and mainly biotechnology. Greatest interest is the problem related to the reconstruction of embryonic mammalian cells. Reconstruction of embryonic cells, in fact, includes the task of studying the mechanisms of realization of genetic information and provides an effective strategic approach to obtaining animals with desired properties, to conservation of genetic resources. This line of research is designed to solve important problems such as determining the actual genome totipotent cells of different level of differentiation and the ability of genomes to reprogramming; obtaining hybrid animals and interspecies chimeras by artificial fusion of genomes and reconstructed zygotes and early embryos; to research approaches of obtaining copies of the paternal and maternal copies, or cloning.

The report presents a new and improved techniques and devices that allow a standardized way of fixing the embryo during the microsurgery, minimizing the possibility of making them injuries. Particular attention is paid to damaging factors, that unfortunately present in the various publications relating to the reconstruction of cells and are not noted. The possibility of a reliable and successful micromanipulation during microsurgery of cells in a special open microchamber is interrogated in detail.

The purpose of this investigation was to study the factors that limit the process of reconstruction of early mammalian embryos and improving technological milestones of microsurgery.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОГЕСТЕРОНА МЕТОДОМ ЛАТЕРАЛЬНОГО ПРОТОЧНОГО ИММУНОАНАЛИЗА С ЦЕЛЬЮ РАННЕГО ДИАГНОСТИРОВАНИЯ СТЕЛЬНОСТИ КОРОВ

Сафронова В.А., Самсонова Ж.В., Осипов А.П., Егоров А.М.
Химический факультет, МГУ им. М.В. Ломоносова,
119992 Москва, Ленинские горы, дом 1, строение 11

Раннее диагностирование стельности коров является важным экономическим фактором в животноводстве. Традиционные методы определения стельности, такие как ректальный метод и ультразвуковое сканирование, позволяют диагностировать стельность коров только на 2-3 месяце. Иммуноферментный метод анализа, основанный на определении уровня прогестерона в сыворотке крови или молоке коров, позволяет установить стельность уже на 19-21 сутки после осеменения, однако требует специального оборудования.

Целью данной работы была разработка тест-системы для определения прогестерона на основе принципа латерального проточного иммуноанализа (ЛПИА) с использованием в качестве метки пероксидазы хрена, которая бы позволяла на 20-21 сутки после осеменения, без специального оборудования и пробоподготовки диагностировать стельность коров. В процессе разработки анализа были оптимизированы по функциональным свойствам необходимые компоненты тест-системы, мембрана для нанесения образца, аналитическая мембрана, концентрации реагентов. Подобраны оптимальные условия для проведения анализа в цельном коровьем молоке, определены аналитические характеристики метода. Разработанный экспресс-метод ЛПИА прогестерона, позволяет проводить анализ в необходимом диапазоне концентраций. Предел обнаружения метода составил 1 нг/мл. Время проведения анализа составляет 15 минут. Концентрацию прогестерона в образцах молока определяли как методом ЛПИА, так и методом иммуноферментного анализа. Сравнение полученных результатов показывает возможность эффективного выявления стельности коров с помощью метода ЛПИА. Основными преимуществами данного метода является его простота в применении, быстрота проведения анализа, низкая стоимость и возможность применять данный метод во внелабораторных условиях.

DETERMINATION OF PROGESTERONE BY THE LATERAL FLOW IMMUNOASSAY FOR EARLY PREGNANCY DIAGNOSIS OF COWS

Safronova V.A., Samsonova J.V., Osipov A.P., Egorov A.M.
Department of Chemistry, M.V.Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Early identification of pregnant and nonpregnant cows post breedibg is an important economic factor in dairy industry: it allows dairy farmers to increase production of both milk and meat, reduce the cost of animal feed, as well as the cost of insemination. Traditional methods for the determination of pregnancy, such as rectal palpation and ultrasonography can determine pregnancy cows only for 2-3 months. Enzyme immunoassay methods, which are based on determining the level of progesterone in the blood serum or milk cows, let you detect a pregnancy status at 19-21 days after insemination. But special equipment is required to carry it out.

The aim of this work was to develop a test system based on lateral flow immunoassay (LFIA) and peroxidase as a label to determine progesterone, which would allow fast, even at 20-21 days after insemination, without special equipment and sample preparation diagnose pregnancy cows. In developing the analysis necessary components of the test systems have been selected: a sample pad, an analytical membrane, and the concentration of reactants. Also the appropriate conditions were chosen for analysis in whole milk. Thus, in the course of this work the LFIA method was developed to determine progesterone, which allows carrying the analysis out in the required concentration range. The detection limit of the method was 1 ng/ml. The time of analysis is 15 minutes. The concentration of progesterone in milk samples was determined both by LFIA and enzyme immunoassay. Comparison of the results shows the possibility of effectively detect pregnancy cows using the LFIA. The main advantages of this method is ease to use, speed of analysis, low cost and the ability to apply this method in non-laboratory conditions.

ПОСТЕРЫ
POSTERS

МОДЕЛИРОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ – МЕЛАФЕНА, НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Алексеева О.М., Кременцова А.В., Ерохин В.Н., Семенов В.А.,
Институт биохимической физики им. Н.М.Эмануэля РАН,
Email: olgavek@yandex.ru, 119334 Москва, ул. Косыгина, д. 4, ИБХФ РАН.

В работе проведено исследование действия синтетического стимулятора роста растений – мелафена (меламиновая соль бис (оксиметил)фосфиновой кислоты), на клетки животного происхождения, находящиеся в состоянии постоянной пролиферации. Объектом была карциносаркома Льюис – экспериментальное злокачественное новообразование, трансплантируемое мышам линии C_{57}Bl и их гибридам первого поколения F_1 (C_{57}BlxDBA). За развитием опухолевого процесса следили по изменению размеров опухоли, и по продолжительности жизни животных в контрольной и опытных группах.

Наиболее важным показателем противоопухолевой активности препарата является увеличение средней продолжительности жизни. Но продолжительность жизни достоверно не изменилась при разных схемах применения мелафена в опытных группах по сравнению с контрольной группой. Более того, в группе с наибольшей концентрацией мелафена (10^{-5} моль/кг, при введении до гибели последнего животного в группе) проявилась токсичность тестируемого вещества: опытные животные погибли достоверно раньше, чем контрольные. При этом размер опухоли достоверно уменьшился у животных во всех экспериментальных группах (10^{-12} моль/кг, 10^{-9} моль/кг,10^{-5} моль/кг) по сравнению с опухолью у животных в контрольной группе. Это позволяет сделать вывод, что мелафен замедляет рост опухоли. Значения латентного периода развития опухоли в экспериментальных группах практически не отличались от значений в контрольной группе.

Полученные данные свидетельствуют о том, что для действия регулятора роста растений – мелафена, на клетки животного происхождения, находящиеся в состоянии постоянной пролиферации, наблюдается нелинейность зависимости доза-эффект. Мелафен замедляет рост опухоли, не увеличивая продолжительности жизни экспериментальных лабораторных животных.

THE EXPERIMETAL MODELL OF PLANT GROWTH REGULATOR – MELAFEN, ACTION TO THE LABORATORY ANIMALS.

Alekseeva O.M., Krementsova A.V., Erokhin V.N., Semenov V.A.
Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences,
ul. Kosygina, 4, Moscow, 119334; Fax: (499) 137-41-01; E-mail: olgavek@yandex.ru

This investigation deals with the action of synthetic plant growth stimulant of Melafen (melamine salt of bis (oximethyl)phosphinic acid) influences to the animal tumor cells *in vivo* – to the growth kinetic of experimental malignant neoplasm of solid tumors (carcinoma Luis of F_1: C_{57}BlxDBA mice). We measured the change of tumor sizes, and the animal life expectancy in control and experimental groups for monitoring of tumors process development. Experiments *in vivo* revealed that the all tested doses of Melafen (10^{-12} mol/kg, 10^{-9} mol/kg, 10^{-5} mol/kg) suppressed the process of Luis carcinoma growth. Notably, the rates of tumor growth decelerated, and the means of tumors volume were decreased at the point of animal's death time. The means of lifespan for experimental and control animals were similar. Furthermore, in group of animals with greatest concentration of melafen (10^{-5} mol/

kg under the injection up to death of the last animal in the group) became apparent the toxicity of testable substance: the experimental mice dead earlier than control animals. Thereby, the tested substance have the appreciable suppressive action to the tumor development of Luis carcinoma under the all tested dozes, even under the super low dozes (10^{-12} mol/kg). Importance of latent period of tumors development in experimental groups in practice same, as in control set. Obtained data testify that for melafen action on of animal cells, being is able to of constant proliferation, is seen the non-linearity of dose-response relationship. Melafen slows the tumor's growth, but not increasing the life expectancy of the tested experimental laboratory animals.

МНОЖЕСТВЕННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ САЙТЫ ИНТЕГРАЦИИ ГЕЛИТРОНА В ГЕНОМАХ ДОМАШНЕЙ ЛОШАДИ И КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Астафьева Е.Е., Глазко В.И.
Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Россия, Москва, vglazko@yahoo.com

В целях подбора удобных маркеров для полилокусного геномного сканирования высших млекопитающих выполнен подбор праймеров, гомологичных нуклеотидным последовательностям относительно консервативных участков гелитровнов, выявленных у животных. Гелитроны принадлежат семейству ДНК транспозонов с уникальным механизмом репликации – «катящегося кольца» (rolling-circle). С спользование алгоритмов BLASn позволило обнаружить в секвенированных последовательностях геномов крупного рогатого скота, лошадей представленность отдельных участков, гомологичных нуклеотидным последовательностям, в частности, 3' фланга гелитронов. Применение в ПЦР выбранной в качестве праймера последовательности позволило получить полилокусые спектры участков ДНК, фланкированных ее инвертированным повтором, у крупного рогатого скота и лошадей разных пород. Получены спектры фрагментов ДНК, в диапазоне длин от 100 до 2000 пар нуклеотидов, включающих суммарно около 20 нуклеотидных последовательностей. Выявлены межвидовые и межпородные отличия спектров. На ряду с этим, обнаружены ДНК фрагменты сходной длины, присутствующие в спектрах продуктов амплификации разных видов. В целях выяснения связей между распространенностью последовательностей, гомологичных участку гелитрона животных и геномной нестабильностью, у ряда животных выполнено сопоставление количества ДНК фрагментов в спектрах продуктов амплификации и частоты встречаемости эритроцитов с микроядрами в периферической крови (микроядерный тест). Полученные данные свидетельствуют о том, что в геномах высших млекопитающих нуклеотиные последовательности, гомологичные участкам гелитронов, могут присутсвовать на коротких расстояниях в альтернативных цепях ДНК, их применение в качестве праймеров позволяет получать полиморфные полилокусные спектры продуктов амплифкации, что может использоваться для контроля генофондной динамики.

MULTIPLE POTENTIAL SITES OF HELITRON INTEGRATION IN CATTLE AND HORSE GENOMES

Astafeva E.E., Glazko V.I.
Russian State Agrarian University – MTAA, Moscow, 127550, Timirjazevsky street, 49

In the purpose of choosing of convenient markers for polyloci genomic scan of cattle and horse species the selection of primers, homologous to the nucleotide sequences of the relatively conserva-

tive parts of helitrons, detected in animals, were carried out. Helitron is DNA transposon, replicated by rolling-circle mechanism. The use of BLASn algorithms allowed to discover in sequencing genomes of cattle, horses representation of individual sites, homologous to nucleotide sequences, in particular, on the helitron 3' flank. The application in the PCR the sequences selected as the primer, allowed to receive of polyloci DNA spectra, flanking by inverted repeats of these sequences, in genomic DNA of cattle and horses of different breeds. We obtained the spectra of DNA fragments, ranging in length from 100 to 2000 pairs of nucleotides, which include in total near 20 of the nucleotide sequences. It was identified the interspecific and interbreed specific differences in DNA spectra of amplification products, obtaining with the use as primer the sequences of helitron flank. However, in this time, conserve DNA fragments of similar length were discovered, presented in the spectra of amplicons of different species. In order to clarify the relations between the prevalence of sequences of homologous to helitron flank in genomes and genomic instability, for some animals the comparisons between the number of DNA fragments in the spectra of amplification products and frequency of erythrocytes with micronuclei was carried out (the micronuclei test).

The data obtained suggest that in the genomes of cattle and horse the nucleotide sequences homologous to helitron pieces were presented on short distances in the alternative DNA chains, their application as primers allowed to receive polymorphic polyloci spectra of amplification products, that could be used to control of gene pool dynamics in cattle and horse populations.

ИНБРИДИНГ И ПОЛИМОРФИЗМ «АНОНИМНЫХ» ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК В ПОПУЛЯЦИЯХ ОВЦЕБЫКОВ СЕВЕРА РОССИИ

Бардуков Н.В., Глазко В.И.

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Россия, Москва, 127550, Тимирязевская улица, 49

Выяснение процессов, происходящих в геноме при инбредной депрессии, является важной задачей, решение которой может помочь в борьбе с её негативными проявлениями, как при разведении пород с.-х. животных, так и при контроле популяций диких животных. Исследование было проведено на 80 овцебыках из трёх интродуцированных популяций – благополучной из Западной Гренландии, с острова Врангеля (наиболее инбредной) и популяции полуострова Таймыр. Для полилокусного геномного сканирования применялся метод полимеразной цепной реакции по двум типам молекулярно-генетических маркеров (МГМ) – ISSR-PCR и IRAP-PCR. Для ISSR-PCR в качестве праймеров использовали последовательности $(AG)_9C$, $(GA)_9C$ и $(GAG)_6C$, для IRAP-PCR – терминальные фрагменты мобильных генетических элементов (МГЭ) LTR SIRE-1 и PawS 5. Для популяций был рассчитан усреднённый по типу маркера индекс PIC (Polymorphic Information Content), отражающий долю гетерозигот. По ISSR-маркерам: у гренландской популяции PIC = 0,10; у таймырской = 0,08; у врангелевской = 0,06. По IRAP-маркерам: у гренландской популяции PIC = 0,02; у таймырской = 0,13; у врангелевской = 0,14. Таким образом, уровень полиморфизма по выбранным ISSR-маркёрам находится в прямой зависимости от степени инбридинга, а по IRAP-маркерам – в обратной. Наши данные показывают, что под влиянием инбридинга динамика изменения полиморфизма фрагментов генома, фланкированных инвертированными повторами микросателлитов и терминальных участков МГЭ разнонаправлена.

INBREEDING AND POLYMORPHISM OF «ANONYMOUS» DNA FRAGMENTS IN MUSK OXEN POPULATIONS OF NORTH RUSSIA

Bardukov N.V., Glazko V.I.
Russian State Agrarian University–MTAA,
Russia, Moscow, 127550, Timirjazevskaya street, 49

Identification of genomic processes during inbreeding depression is an important problem. Its solution may be useful for struggle against undesirable implications of inbreeding depression in farm animals breeding and monitoring of wild animal populations. Our investigation included 80 musk oxen from three introduced populations: the favourable population in Western Greenland, the most inbred population in Wrangel Island and the Taymyr Peninsula population. The method of Polymerase Chain Reaction was used for polyloci genome scanning. We used two types of molecular genetic markers (MGM) – ISSR-PCR and IRAP-PCR. We used $(AG)_9C$, $(GA)_9C$ and $(GAG)_6C$ as primers for ISSR-PCR. The terminal parts of mobile genetic elements (MGE) LTR-SIRE-1 and PawS 5 were used for IRAP-PCR. The average values of PIC index (Polymorphic Information Content) were counted which show a share of heterozygotes for each population and each type of markers. The values of PIC index for ISSR-markers were 0.10 in Greenland population; 0.08 in Taymyr population and 0.06 in Wrangel population. While the values of PIC index for IRAP-markers were 0.02 in Greenland population; 0.13 in Taymyr population and 0.14 in Wrangel population. Therefore, level of polymorphism of used ISSR-markers depends on inbreeding degree in direct way, but for IRAP-markers there is an opposite dependence. Our data acquired from polymorphism of genome fragments, flanked by inverted microsatellite repeats and MGE terminal parts, show that their dynamics under inbreeding is differently directed.

ISSR-PCR И IRAP-PCR ПОЛИЛОКУСНЫЕ МАРКЕРЫ В ПОИСКАХ «ГЕНОФОНДНОГО СТАНДАРТА» ПОРОД ЛОШАДЕЙ

Эркенов Т.А., Глазко В.И.
Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Россия, Москва, 127550, Тимирязевская ул. 49,

В связи с проблемой сохранения лошадей местных пород и необходимостью разработок методов выявления их «генофондного стандарта», нами выполнено генотипирование 156 лошадей (96 алтайской породы из двух разных хозяйств, 12 карачаевской породы и 48 лошадей рысистых пород) Для полилокусного геномного генотипирования использовали метод полимеразной цепной реакции (PCR) с уникальными праймерами, фрагментами микросателлитных локусов – ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeat) маркеры и участков длинных терминальных повторов (Long Terminal Repeats – LTR) ретротранспозонов – IRAP-PCR (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism). В результате у каждой группы лошадей в спектрах продуктов амплификации выявлены ДНК фрагменты, не встречающиеся у других групп, а также описаны особенности распределения фрагментов ДНК разной длины, фланкированных инвертированными повторами микросателлитов, а также LTR. Так, в спектрах, полученных с праймерами $(AG)_9C$ и $(GA)_9C$, у лошадей карачаевской породы по сравнению с другими исследованными животными, найдено наименьшее количество полиморфных локусов (28,6%), а по $(CTC)_6C$ – наибольшее (77,8%). У лошадей рысистых пород наиболее полиморфными оказались спектры, полученные с динуклеотидными праймерами $(GA)_9C$ (87,5%) и $(AG)_9C$ (77,8%), а наименее полиморфным – спектр праймера $(CTC)_6C$ (42,9%).

Полученные спектры продуктов амплификации при использовании разных праймеров содержали фрагменты ДНК разной длины, сочетание которых позволяло надежно отличать лошадей разных пород. На дендрограмме, построенной на основании частот их встречаемости, группы лошадей формировали два отдельных кластера: один объединял лошадей спортивных пород, второй – лошадей карачаевской и двух групп алтайской породы. Обсуждается эффективность использования ISSR-PCR и RAPD-PCR маркеров для выявления «генетического стандарта» пород.

ISSR-PCR AND IRAP-PCR POLYLOCI MARKERS IN SEARCHING OF "GENE POOL STANDARD" OF BREED HORSES

Erkenov T.A., Glazko V.I.
Russian State Agrarian University – Moscow Agricultural Academy named after K.A. Timiryazeva, Russia, Moscow, 127550, Timiryazevskaya Street. 49, erkenov_timur@yahoo.com

In relation of the problems of preservation of local horse breeds and needing of method development to identification of "gene pool standard" of breeds, the genotyping of 156 horses (96 Altai breeds from two different farms, 12 Karachay breeds and 48 horses of sport trotter breeds) were carried out. The methods of polymerase chain reaction (PCR) with the unique primers, fragments of microsatellite loci – ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeat) markers and parts of retrotransposon long terminal repeats (Long Terminal Repeats – LTR) – IRAP-PCR (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism) for polyloci genomic genotyping were used. As a result, in each horse group, in spectra of DNA amplification products the fragments which were not meeting in determined horse groups were revealed, and also specific traits of distribution of DNA fragments of the different lengths, flanked by inverted repeats of microsatellites, and also LTR, were described. So, in the spectra, received with primers $(AG)_9C$ and $(GA)_9C$, in horse genomes of the Karachay breed, in comparison with other studied animals, the smallest quantity of polymorphic loci (28,6%), and on $(CTC)_6C$ – the greatest (77,8%) were found. The most polymorphic DNA fragments in spectra of sport trotter horse breeds had received with the primers $(GA)_9C$ (87,5%) and $(AG)_9C$ (77,8%), and the least polymorphic ones – in the spectra, obtained with the primer $(CTC)_6C$ (42,9%).

The received spectra of amplification products, received with the using of different primers, contained the DNA fragments of the different length, which combination allowed to distinguish of horses, belonging to different breeds. On the dendrogramme, constructed on the basis of frequencies of revealing DNA fragments, groups of horses formed two separate clusters: one united horses of the sports trotter breeds, the second – horses Karachay and two groups of the Altai breed. Efficiency of use of ISSR-PCR and RAPD-PCR markers for identification of "gene pool breed standard" was discussed.

КОРРЕКЦИЯ ГОМЕОСТАТИЧЕСКИХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА НА ФОНЕ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СУПЕРЭКОТОКСИКАНТОВ

Идиятов И.И., Иванов А.А., Папуниди К.Х.
Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности (ФЦТРБ-ВНИВИ)

В экспериментальном моделировании сочетанного воздействия диоксина в дозе 15 мкг/кг массы тела и Т-2 токсина на уровне 200 мкг/кг корма на организм поросят, морфологически и патогенетически обосновано применение препаратов сорбционного и политерапевтического

действия. Выбор был сделан в пользу цеолита и димефосфона, которые задавали ежедневно в дозах 2% от рациона и 90 мг/кг массы тела, соответственно. Цеолит является уникальным энтеро-донорсорбентом и наноструктурным мембранным материалом. Широким спектром действия нас заинтересовал димефосфон.

Экспериментально доказано, что данная терапевтическая схема предупреждала падеж и проявление признаков эндотоксикоза, способствовала нормализации клинического статуса, гомеостатических систем организма и коррекции нарушенной функциональной способности органов. Оказывая благоприятное воздействие на морфологические и биохимические показатели крови, процессы свободнорадикального окисления, коррегирующее воздействие на клеточный и гуморальный звенья иммунной системы. Установлено отсутствие патологических изменений в паренхиматозных органах, сохранялась их нормальная архитектоника. Полученные результаты выявили селективные сорбционно-ионообменные и каталитические свойства цеолита. Вероятно, его действие направлено именно на восстановление «капитала здоровья». В отношении димефосфона возможно заключить, что данное исследование раскрыло его мультимодальное, антиацидотическое, вазоактивное, антиоксидантное, мембраностабилизирующее, иммунокорригирующее свойства.

Тем самым, установлена высокая терапевтическая эффективность комбинированного применения нанобиоструктурного адсорбента – цеолита и препарата широкого спектра действия – димефосфон при сочетанном поражении животных такими суперядами политропного действия, как диоксин и Т-2 токсин.

THE CORRECTION OF HOMEOSTATIC SYSTEMS OF AN ORGANISM AGAINST THE BACKGROUND OF COMBINED INFLUENCE OF SUPERECOTOXICANTS

Idiyatov I.I., Ivanov A.A., Papunidi K.Kh.
Federal center of toxicological, radiation and biological safety (FCTRB-VNIVI)

In experimental modeling of the combined influence of dioxin in a dose of 15 mkg/kg body weight and T-2 toxin at a level of 200 mkg/kg of forage on an organism of sucking-pigs, morphologically and pathogenetically was proved the application of preparations of adsorption and polytherapeutic actions. The choice was made in favor of zeolite and dimephosphone, which were administered daily in doses 2% of a ration and 90 mg/kg body weight, respectively. Zeolite is unique entero-donoroadsorbent and a nanostructural membranous material. Dimephosphone interested us for its broad spectrum of activity.

Experimentally was proved that therapeutic scheme prevented of death and manifestation of endotoxicosis signs, promoted normalization of the clinical status, homeostatic systems of an organism and correction the functional ability of organs. Given scheme is provided favorable impact on morphological and biochemical characteristics of blood, processes of free radical oxidation, contributed of correction the cellular and humoral links of immune system. Absence the pathologic changes of parenchymal organs, preservation of theirs architecture were established. The experiment results revealed of selective absorptivity-ion-exchange and catalytic characteristics of zeolite. Possibly, its action is directed on restoration “the health capital”. Dimephosphone in given research revealed multimodal, antiacydotic, vasoactive, antioxidative, membrane-stabilizing, immunocorrective properties.

Therefore, established the high therapeutic efficacy of combined application nanobiostructural adsorbent – zeolite and drug broad-spectrum – dimephosphone at the combined poisoning of animals by supertoxicants polytropic actions, such as dioxin and T-2 toxin.

Keywords: dioxin, T-2 toxin, alimentary poisoning, zeolite, dimephosphone, hematogenesises, metabolism, biochemical profile, ferments activity, lipids peroxidation, immune status.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОСНОВ СРЕД С ПРОДОЛЖИТЕЛЬНЫМ СРОКОМ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА *IN VITRO*

Маленко Г.П., Корниенко Е.В., Коробкова М.Ю.
ГНУ Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий Российской академии сельскохозяйственных наук
127422, Москва, ул. Костякова, д. 12. Россия. E-mail: kornienko.katerina@gmail.com

Среды TH для работы с гаметами и эмбрионами на воздухе, TF для оплодотворения (Bavister and Yanagimachi, 1977; Parrish et al., 1986, 1988), а также SOF для культивирования эмбрионов крупного рогатого скота (Tervit et al., 1972), готовят непосредственно в лаборатории. При этом срок использования сред составляет 1–2 недели (Sirard, Coenen, 2006). Было показано, что снижение качества сред, содержащих 25 мМ $NaHCO_3$, коррелировало с увеличением pH в процессе их хранения, что могло происходить вследствие конверсии бикарбоната в CO_2 и его утечки в атмосферу (Stewart-Savage, Bavister, 1988). С целью предотвращения защелачивания в процессе хранения мы готовили основы сред TF и mSOF без бикарбоната натрия. Основу среды TF фасовали по 1,5 мл и хранили при –20°C, основу среды mSOF хранили при 4°C. Перед применением основы сред дополняли $NaHCO_3$ (TF), или $NaHCO_3$, Na пируватом, L-глутамином, MEM NEAA, BME EAA (SOF), используя стерильные маточные растворы этих компонентов. Среду TH и основу среды TF использовали после 2–4 месяцев хранения. Срок хранения основы среды SOF составлял до 2 недель (группа 1), 1 (группа 2) или 2 месяца (группа 3). В процессе хранения pH основы среды TF и SOF оставался на уровне 5,4, и 4,8, соответственно. В возрасте 10 суток стадии бластоцисты достигло 32,7, 33,3 и 38,4% одноклеточных эмбрионов в группах 1, 2 и 3, соответственно, из блестящей оболочки вышло 73,2, 68,2 и 66,3% общего количества бластоцист в группах 1, 2 и 3, соответственно (различия статистически не достоверны). Полученные результаты свидетельствуют о возможности продолжительного хранения основ сред TF и SOF, не включающих бикарбонат натрия. Длительное использование основ сред TF и SOF в сочетании с применением стерильных маточных растворов ингредиентов существенно упрощает процедуру еженедельного приготовления рабочих сред и позволяет стандартизировать условия получения эмбрионов в серии экспериментов.

PREPARATION OF CULTURE MEDIA BASES WITH PROLONGED PERIOD OF USE FOR *IN VITRO* PRODUCTION OF BOVINE EMBRYOS

G.P. Malenko, M.Yu. Korobkova, E.V. Kornienko
Centre of experimental embryology and reproductive biotechnology
Russian Academy of Agricultural Sciences
127422, Moscow, ul. Kostyakova, d. 12, str. 4, Russia e-mail: galina_malenko@mail.ru

Handling media used in IVP technology: TH for gamete and embryo handling in air, TF for *in vitro* fertilization, and SOF for embryo cultivation(Bavister and Yanagimachi, 1977; Parrish et al., 1986, 1988), are prepared directly in the laboratory (Tervit et al., 1972). Period of use for such media does not exceed 1 or 2 weeks (Sirard, Coenen, 2006). Quality of the media containing 25 мМ $NaHCO_3$ deteriorated during the storage period, which correlated with the rise in the pH of the media. The increase in the pH possibly was a result of sodium bicarbonate conversion into CO2 and its' concomitant escape into the atmosphere (Stewart-Savage, Bavister, 1988). To prevent alkalization of the stored media we prepared base solution for TF and mSOF media without sodium bicarbonate. TF base was divided into aliquots of exactly 1.5 ml and stored at –20°C. mSOF base was stored at 4°C. Before

each experiment, media bases were supplemented with $NaHCO_3$ (TF) or $NaHCO_3$, sodium pyruvate, L-glutamine, MEM NEAA, BME EAA (SOF) using the sterile stock solution of the components. TH medium and TF medium base were used after 2–4 month of preservation. SOF base was stored for 0–2 weeks (Group 1), 1 month (Group 2), or 2 months (Group 3), before it was used for preparation of the culture medium. TF and SOF bases retained the level of pH at 5.4 and 4.8 during the storage period, respectively. At the age of 10 days after fertilization, 32.7, 33.3 и 38.4% of zygotes reached blastocyst stage and 73.2, 68.2 и 66.3% of the blastocysts hatched in Groups 1, 2 and 3, respectively. There were no statistically significant differences in embryonic development rates between the experimental groups. Obtained results indicate a possibility of extended storage period of TF and SOF media bases without sodium bicarbonate. Prolonged use of TF and SOF media bases in combination with utilization of the sterile stock solutions of media components significantly simplifies process of weekly media preparation and allows standardization of embryo cultivation conditions in a set of experiments.

ПОЛИМОРФИЗМ ИНВЕРТИРОВАННЫХ ПОВТОРОВ МИКРОСАТЕЛЛИТОВ И ЕГО ВОЗМОЖНЫЕ ИСТОЧНИКИ НА ПРИМЕРЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Феофилов А.В.

Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева
127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, д .49

Исследованы полилокусные спектры фрагментов геномной ДНК, фланкированные инвертированными повторами различных микросателлитов (ISSR-PCR маркеры) в целях оптимизации методов выявления и контроля генетических процессов у сельскохозяйственных видов животных (крупный рогатый скот, овцы, козы, лошади). Применялись методы выделения ДНК, постановки ПЦР, электрофореза, клонирования фрагментов ДНК, секвенирования, методов биоинформатики для выявления причин отличий в полиморфизме ISSR-PCR маркеров. Использовалась стандартная аппаратура для ПЦР-анализа и клонирования, а также электропоратор Eporator, секвенатор ABI PRISM 3730.

Впервые получены данные о связях между оценками генетической дифференциации ряда пород и помесных групп по ISSR-PCR маркерам, и нуклеотидными последовательностями фланговых микросателлитов, их геномной локализации, а также с видовой и породной принадлежностью животных. Впервые экспериментально доказано, что источником формирования полиморфных ISSR-PCR маркеров может быть рекомбинация между мобильными генетическими элементами. У лошадей выявлен ДНК фрагмент ISSR-PCR спектра, присутствующий только у жеребцов. Полученные данные непосредственно применяются для уточнения родственных взаимоотношений между рысаками различного происхождения, а также при чтении курсов лекций по генетическими методам анализа и их использовании в работе с сельскохозяйственными видами животных.

Результаты рекомендуется применять при разработках «генофондного стандарта» исследованных пород. У лошадей ДНК фрагмент, присутствовавший только у жеребцов, может использоваться для пренатальной диагностики пола методом ПЦР-анализа.

POLYMORPHISM OF MICROSATELLITE INVERTED REPEATS AND ITS POSSIBLE SOURCES ON EXAMPLE OF AGRICULTURE ANIMALS

Pheophilov A.V.
Russian state agrarian university – MTAA
127550, Microsoftoscow, Timiryazevskaya str., 49

Polyloci spectra of genomic DNA fragments flanked by inverted repeats of various microsatellites (ISSR-PCR) were investigated to optimize methods of revealing and control of genetic processes in agricultural animal species (cattle, sheep, goats, horses). We used following methods: DNA extraction, PCR, electrophoresis, DNA fragments cloning, sequencing and bioinformatics to reveal reasons of differences observed in ISSR-PCR markers' polymorphism. A standard equipment for PCR analysis and cloning was used. Also we used an electroporator "Eporator" and a sequencer ABI PRISM 3730.

For the first time data about relation between estimation of genetic differentiation of several breeds and crosses by using ISSR-PCR markers and nucleotide sequences of flanking microsatellites are acquired. Also we found the similar relation with specie and breed affiliation. It is shown for the first time that a source of polymorphic ISSR-PCR markers may be in recombination between mobile genetic elements. We found 1 ISSR-PCR marker which was observed only in horse males. Data acquired is applied for accurate definition of relative relations between different trotters and also in lections about genetic analysis and their applications in work with agricultural animals.

The results are recommended to be used for creation of "genetic standard" of breeds investigated. The DNA fragment found only in horse males may be used in prenatal sex diagnostics by means of PCR analysis.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКУЛОВИРУСНОЙ СИСТЕМЫ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ВАКЦИН ПРОТИВ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ СВИНЕЙ

Раев С.А.[1], Алексеев К.П.[2], Шемельков Е.В.[1], Забережный А.Д.[2]
Алипер Т.И.[1], Мусиенко М.И.[2], Орлянкин Б.Г.[1], Верховский О.А.[1],
[1]*АНО «Научно-исследовательский институт диагностики*
и профилактики болезней человека и животных», Москва, Россия
[2]*ФГБУ Научно-исследовательский институт вирусологии*
им. Д.И. Ивановского Минздравсоцразвития
АНО «Научно-исследовательский институт диагностики
и профилактики болезней человека и животных»,
123098, Москва, ул. Гамалеи, д. 16, стр. 2

Бакуловирусы – семейство вирусов, представители которого являются возбудителями вирусных болезней членистоногих. Наиболее изученным представителем бакуловирусов является Autographa californica – вирус ядерного полиэдроза (AcNPV). Геном AcNPV представлен кольцевой двуцепочечной ДНК размером 130 kbp, упакованной в нуклеокапсид в виде палочки. Способность нуклеокапсидов увеличиваться в длину позволяет вводить в вирусный геном чужеродную ДНК большого размера. В этом случае говорят о бакуловирусном векторе, способном экспрессироваться в клетках насекомых. Популярность бакуловирусной системы экспрессии генов (БСЭГ) связана со способностью клеток насекомых к пострансляционным изменениям белков (гликозилирование, фосфорилирование, и др.), что необходимо с точки зрения биологической активности многих сложных белков. Известно, что БСЭГ является хорошим инструментом при разработке субъеденичных вакцин, а также диагностических препаратов. В ряде работ было показано, что белки, полученные подобным образом, обладают выраженными им-

муногенными свойствами. Возможность использования полученного в БСЭГ рекомбинантного нуклеокапсидного белка ORF-2 цирковируса свиней второго типа (ЦВС-2) для специфической профилактики цирковирусной болезни свиней (ЦВБС) была доказана многочисленными работами.

В результате проведения ряда генно-инженерных методов с использованием системы Bac-to-Bac (Invitrogen) были получены конструкции, содержащие ген ORF-2 цирковируса свиней генотипа 2b (данный генотип широко циркулирует в свиноводческих хозяйствах многих стран, включая РФ). Экспрессия белков осуществлялась в клетках насекомых (Sf-9; Hi-five), в условиях суспензионного культивирования с использованием бессывороточных питательных сред. Специфичность полученного белка была показана в Вестерн-блоте с моноклональными антителами. Антигенная активность препарата на основе ORF-2 ЦВС-2b была на одном уровне в сравнении с препаратами на основе ORF-2 ЦВС-2a. Таким образом, нами был сделан вывод о перспективности дальнейшего использования бакуловирусной системы экспрессии при разработке вакцин.

USE OF BACULOVIRUS EXPRESSION SYSTEM FOR DEVELOPING VACCINES AGAINST VIRUS DISEASES OF SWINE

Raev S.A.[1], Aliper T.I.[1], Alekseev K.P.[2], Zaberezhny A.D.[2]
Schemelkov E.V.[1], MusienkoM.I.[2], Orlyankin B.G.[1], Verkhovski O.A.[1]
[1]*Independent Non-Profit Organization "Diagnostic and Prevention Research Institute for Human and Animal Diseases", Moscow, Russia*
[2]*The D.I.Ivanovsky Institute of Virology of Ministry of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation, Moscow, Russia*
Independent Non-Profit Organization "Diagnostic and Prevention Research Institute for Human and Animal Diseases", 123098, Moscow, Gamalei St., 16\2

Baculoviruses – family of the viruses which representatives are causative agents of virus diseases of arthropods. By far the most widely studied member of this family is autographa californica nucleopolyhedrovirus (AcNPV). AcNPV has a circular, double stranded, super-coiled DNA genome of c. 130 kbp packaged in a rod-shaped nucleocapsid. These nucleocapsids can extended lengthways and thus the virus genome can effectively accommodate large insertions of foreign DNA. Such insertions of foreign genes into the AcNPV genome has resulted in production of baculovirus expression vectors, that is, recombinant viruses genetically modified to contain of foreign gene of interest, which can be expressed in insect cells. The baculovirus expression vector system (BEVS) is now one of the most popular methods of protein production, because insect cells have the capability of perfoming many of the posttranslational modifications (glycosylation, phosphorylation) that are important for biological activity of proteins. It is known that the BEVS is the good tool for developing subunit vaccines, and also diagnostic test-systems. In a number of works it was shown that the proteins received in this way, possess the expressed immunogenic properties.

Possibility of use BEVS for production recombinant nucleocapsid protein (ORF-2) of porcine circovirus type 2 for specific prevention of PCV-2 infection was proved by numerous works.

As a result of carrying out a number of genetically engineered methods with use of Bac-to-Bac (Invitrogen) system the construction containing a gene of ORF-2 PCV-2b (this genotype widely circulates in pig-breeding farms of many countries, including the Russian Federation) were received. The expression of proteins was carried out in insect cells (Sf-9; Hi-five), in suspension culture with use of serum-free media. Specificity of the received protein was shown in Western-blot with monoclonal antibodies. Antigenic activity of a vaccine on the basis of ORF-2 PCV-2b was at one level in comparison

with the commercially available vaccine on the basis of a PCV-2a. These data confirm a conclusion on prospects of further use of baculovirus expression system for developing vaccines.

ИНДУКЦИЯ СПЕРМАТОГОНИЕВЫХ КЛЕТОК ХРЯКА К ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ *IN VITRO*

Савченкова И.П., Васильева С.А.
ГНУ ВНИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко Россельхозакадемии, Москва, Рязанский пр-т, 24/1

Ранее в результате длительного культивирования сперматогоний хряка на фидерном слое STO в ростовой среде для ЭСК, дополненной DIA, были получены клоны с ЭСК морфологией, в которых обнаруживалась неспецифичная ЩФ, экспрессия SSEA-1 и POU5F1, что могло свидетельствовать о частичной реактивации транскрипционных факторов полипотентности [Савченкова И.П.и др., 2012]. В связи с этим целью наших исследований было оценить потенции полученных клеточных колоний формировать при индукции эмбриональные тельца (ЭТ). Для получения ЭТ, клетки пересевали в высокой плотности и инкубировали в течение 7-ми сут до достижения ими монослоя. После этого клетки осторожно снимали с подложки трипсинизацией, заботясь о том, чтобы не разбить клеточные клоны, очищали от STO и индуцировали к суспензионному культивированию. В результате наблюдали формирование трехмерных агрегатов, схожих с ЭТ. На 7-е сут культивирования в суспензии ЭТ-подобные структуры переносили снова в адгезивные чашки Петри. При этом на 2-е сут наблюдали, что часть клонов прикрепилась, а часть осталась в суспензии, сохраняя ЭТ-подобную структуру. На 3-5 сут культивирования вокруг прикрепившихся ЭТ-подобных структур визуализировались клетки, которые отличались между собой по морфологии, а часть клеток образовывали круглые или продолговатые клоны. Можно предположить, клеточная популяция, обогащенная сперматогониями хряка, может быть источником для получения *in vitro* колоний с фенотипом подобным ЭСК. Это открывает новые перспективы для получения ЭСК крупных сельскохозяйственных животных (лошадь, крупный рогатый скот), у которых существует проблема дефицита биологического материала – предымплантационных зародышей.

Савченкова И.П.Полякова М.В., Викторова Е.В., Кулешов К.В.Длительное культивирование сперматогоний типа А хряка//Доклады РАСХН. 2012. №.5. С. 46-49.

Работа поддержана грантом РФФИ 10-04-01471-а

INDUCTION OF BOAR SPERMATOGONIAL CELLS TO DIFFERENTIATION *IN VITRO*

Savchenkova I.P., Vasilyeva S.A.
Kovalenko's All Russian State Research Institute of Experimental Veterinary Medicine Moscow, Ryazanskiy Ave, 24/1

Earlier in result of the long culturing of boar type A spermatogonia in medium for ESCs with DIA on feeder layer STO we received clones with ESCs morphology in which has been revealed alkaline phosphatase, expression of SSEA-1 and POUF5 that could testify about partial reactivation of transcription factors of pluripotency [Savchenkova et al., 2012]. In this regard the purpose of our researches was to evaluate a potency of the derived cellular colonies with a phenotype similar ESCs, to differentiation *in vitro* used indirect methods, by means of creation of the embryonic little bodies (EBs).

For receiving EBs, cellular clones were sowed in high density and incubated for 7 days before achievement of a monolayer. After, these cellular colonies carefully were removed from a substrate with trypsin treatment, caring not to break the cellular clones, were separated from STO and were induced to suspension cultivation. As a result was visualized formation of the three-dimensional aggregates similar to EBs. On the 7th day of cultivation in suspension EB-like structures were transferred again on adhesive Petri dishes. Thus on 2d day watched that the part of clones was attached, and the part remained in suspension, saving EB-like structure. On the 3-5th days of cultivation around of attached of EB-like structures were detected cells with different morphology, and the part of cells formed by round or oblong clones. Thus in case of their induction to suspension these cells were capable forming *in vitro* the three-dimensional structures similar ET in which after an attachment cells with different morphology were detected.

It is possible to assume, the cellular population enriched with boar spermatogonia can be a source for receiving *in vitro* of colonies with a phenotype similar ESCs. It opens new perspectives for receiving ESCs of large agricultural animals (a horse, cattle) which have a problem of a deficit of a biological material – preimplantation embryos.

The work is supported by RFBR 10-04-01471-a

ПЦР ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ПРОВИРУСНОЙ ДНК ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Косовский Г.Ю., Сотникова Е.А.
Государственное научное учреждение Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий Российской академии сельскохозяйственных наук г.Москва,
e-mail: sotnikova.evgeniya@gmail.com
127422, г. Москва, ул. Костякова, д. 12 стр.4

Энзоотической лейкоз крупного рогатого скота – хроническая ретровирусная пролиферативная болезнь, возбудителем которой является вирус лейкоза крупного рогатого скота (ВЛКРС) – *Bovine Leukose Virus,* относящийся к семейству *Retroviridae*. В связи с продолжительным латентным периодом, в течение которого больное животное может быть источником заражения, несомненна необходимость ранней диагностики.

Нашей целью было создание тест-системы для диагностики провирусной ДНК ВЛКРС, основанной на применении метода мультиплексной ПЦР с детекцией продуктов реакции в режиме реального времени.

При разработке диагностической системы следует учитывать генетическую гетерогенность ВЛКРС, в противном случае возможно увеличение количества ложноотрицательных результатов. На основе опубликованных в базе данных Genbank последовательностей, относящихся к генам *gag* и *pol,* были созданы консенсусные последовательности. Выделенные в них консервативные участки были использованы в подборе праймеров и зондов. Третья пара праймеров участвует в амплификации уникального участка гена *ABLIM2* Bos taurus, эта реакция используется в качестве внутреннего положительного контроля.

Проведена апробация тест-системы на выборке животных (n=1240) и сравнение с существующим коммерческим набором для диагностики провирусной ДНК ВЛКРС (n=103). В результате сравнения установлено, что эффективность нашей тест-системы выше на 13,6%.

PCR TEST SYSTEM FOR BLV PROVIRUS DETECTION.

Kosovsky G.Yu, Sotnikova E.A.
Centre of experimental embryology and reproductive biotechnology
Russian Academy of Agricultural Sciences
127422, Moscow, ul. Kostyakova, d. 12, str. 4, Russia

Enzootic bovine leukosis is a chronic proliferative retroviral disease caused by Bovine Leukose Virus (BLV), belonging to the Retroviridae family. Due to the long latency period, during which a sick animal can become a source of infection, there is undoubtedly the need of early diagnosis.

Our goal was to create a test system for BLV provirus detection based on the method of real time multiplex PCR.

Genetic heterogeneity of BLV should be considered in the development of the diagnostic system, otherwise there can be an increase in the number of false-negative results. Based on sequences related to genes *gag* and *pol* published in GenBank database, consensus sequences were created. Conservative regions were used in the selection of primers and probes. The third pair of primers takes part in amplification of the unique region of the genome of Bos taurus. This reaction is used as an internal positive control.

The system has been tested on a set of samples (n = 1240) and compared with existing commercial kit for the diagnosis of viral DNA BLV (n = 103). The effectiveness of our test system appeared to be 13.6% higher than effectiveness of the other system.

ПУБЛИКАЦИЯ
PUBLICATIONS

КОМПЛЕКС ПРЕПАРАТОВ БАВ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ АПК И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО РАЗВИТИЯ В УСЛОВИЯХ ВСТУПЛЕНИЯ РОССИИ В ВТО

Аликин Ю.С.[1], Алексеева М.В.[2], Баженов М.А.[1], Лебедев Л.Р.[2], Клименко В.П.[2], Подгорный В.Ф.[1], Телегина Ю.В.[2]
[1]*ЗАО «Велепрес», 630128, г. Новосибирск*
[2]*Институт медицинской биотехнологии (ИМБТ) ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», 633010, г. Бердск, Новосибирской обл., а/я 112;*

Современные тенденции в мире в области производства кормов для сельскохозяйственных животных и птиц, а также их профилактики и лечения, направлены на ограничение или полный запрет использования антибиотиков. В качестве альтернативы антибиотикам могут рассматриваться пробиотики, препараты РНК, повышающие иммунологическую реактивность организма, маннановые олигосахариды (МОС), биологически активные пептиды и другие биологически активные вещества (БАВ), являющиеся продуктами микробиологического синтеза.

По современным воззрениям резистентность организма к инфекционным заболеваниям, сформированная в процессе эволюции, представляется как система, которая отвечает на воздействие РНК- и ДНК- вирусов (индукторов интерферона), компонентов бактерий последующей активизацией цитокиновой сети. Вновь синтезируемые в макроорганизме цитокины (интерфероны и др.) активируют в клетках тканей-мишеней ряд ферментов (протеинкиназы, эндонуклеазы и др.) в качестве исполнительного механизма защиты. С учетом сказанного выше с использованием биотехнологических методов могут быть созданы препараты БАВ.

Основное действие препаратов индукторов интерферона обусловлено их способностью после введения в организм человека и животных вызывать синтез эндогенных (собственных) ин-

терферонов: α-, β- и γ-ИНФ в высоких концентрациях, а также других цитокинов (различных интерлейкинов, факторов некроза опухолей и др.). Как известно, α- и β-интерфероны – мощные противовирусные средства, а γ-интерферон и другие цитокины – активные иммуномодуляторы. Их совместное действие позволяет за короткий промежуток времени подготовить организм к эффективной противоинфекционной защите. Кроме того, индукторы интерферона способны активизировать фагоцитоз нейтрофилов и макрофагов, натуральные киллеры, действуя на Т- и В-клеточные звенья иммунитета, повышать эффективность вакцинации в организме животных и птиц.

В связи с этим в НИКТИ БАВ (в настоящее время ИМБТ) разработан комплекс ветеринарных препаратов БАВ, включающий противоинфекционные лекарственные средства на основе индукторов интерферона (Вестин, Ридостин, Провест), цитокинов (ФНО-альфа), пробиотиков (Субалин), ферментов (Эндоглюкин, Профезим) и иммуномодулятор на основе РНК (Полирибонат). Экспериментальные исследования показали, что индукторы интерферона и цитокины обладают способностью подавлять широкий спектр вирусов и бактериальных инфицирующих агентов и повышать эффективность вакцинации против бактериальных и вирусных инфекций у сельскохозяйственных животных и птиц. Ферментные препараты: протеазы (Профезим) – подавляют бактериальную раневую инфекцию, а нуклеазы (Эндоглюкин) – размножение вирусов, проникших в клетки организма пчел, птицы, телят.

Изучение совместного применения иммуномодуляторов (Вестин и Полирибонат) и пробиотиков (Субалин) с целью полной замены антибиотиков проводили у птицы в процессе выращивания. Введение только одних пробиотиков недостаточно для создания в организме птицы полноценного вакцинного иммунитета к вирусным заболеваниям. Совместное применение пробиотиков и иммуномодуляторов приводило к достоверной стимуляции поствакцинального иммунитета.

Молекулярные механизмы противоинфекционных эффектов указанных выше препаратов в настоящее время активно исследуются. Они могут быть обусловлены как участием мембранных и внутриклеточных рецепторов (например, toll-like рецепторов), так и комплексным взаимодействием пула РНК-аптамеров, образующихся в организме под действием эндогенных РНК-аз, с пептидами, полисахаридами, липидами. Это путь создания новых препаратов и вакцин.

Внедрение эффективных способов применения разработанных препаратов позволяет использовать их в качестве этиотропных средств экстренной профилактики и лечения вирусных заболеваний телят, поросят, плотоядных, птиц и рыб, коррекции иммунодефицитов, усиления протективных свойств вакцин.

Последующая организация высоко наукоемкого биотехнологического производства перечисленных средств неизбежно приведет к созданию новых конкурентно способных технологии ветеринарного обслуживания в стране (за счет снижения применения антибиотиков и гормонов), получению экологически чистых продуктов питания, оздоровлению населения, созданию новых рабочих мест. Эти составляющие являются важным условием работы агропромышленного комплекса (АПК) при вступлении в ВТО.

COMPLEX OF BAS PREPARATIONS FOR VETERINARY SUPPORT AND ITS DEVELOPMENT PROSPECTS OF AGRIBUSINESS INDUSTRY UNDER ACCESSION TO THE WTO

Yu.S. Alikin[1], M.V. Alexeeva[2], M.A. Bazhenov[1], L.R. Lebedev[2], V.P. Klimenko[2], V.F. Podgorny[1], Yu.V. Telegina[2]

[1]*Zao "Velepres", Novosibirsk, Engineering st., 4a, of. 9.*

[2]*Institute of Medical Biotechnology, State Research Center of Virology and Biotechnology "Vector", 633010, Berdsk, Novosibirsk region, Russia*

A complex of BAS-based veterinary preparations has been developed. It includes anti-infective drugs based on interferon inductors (Vestin, Ridostin, Provest), cytokines (TNF-alpha), probiotics (Subalin), enzymes (Endoglyukin, Profezim), and RNA-based immunomodulator (Polyribonat).

The introduction of the developed drugs and methods of their application allows using them as etiotropic agents for emergency prevention and treatment of viral diseases of calves, pigs, carnivorous birds and fish, immunodeficiency correction and vaccine potentiation.

Subsequent organization of high-tech biotechnological production of these agents can lead to the creation of a new technology for veterinary services in the country (by reducing the use of antibiotics and hormones) and also to obtaining organic food, promoting public health and creation of new work places. All these components are very important for work of agribusiness industry in the course of accession to the WTO.

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОДУКТОВ И ЛЕЧЕНИЯ ЖИВОТНЫХ

Уша Б.В.[1], Концевова А.А.[1], Светличкин В.В.[2],

[1]*ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств», 109316 г. Москва, ул. Талалихина, д. 33.;*

[2]*«ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт ветеринарной санитарии, гигиены и экологии Россельхозакадемии», 123022 г. Москва, Звенигородское ш.5, e-mail: ospvnii@mail.ru*

В современном представлении нанотехнология – это область фундаментальной и прикладной науки и техники, базирующаяся на методах исследования, анализа, а также производства при манипулировании с отдельными атомами и молекулами (ДНК, белков и т. д.). Бионанотехнология является разделом нанотехнологии, который занимается изучением и воздействием объектов нанодиапазона на биологические объекты и их использованием для развития наномедицины (в том числе и ветеринарной наномедицины), занимающаяся созданием нанолекарств, диагностических систем на основе наночастиц (иммунохроматографических тестов, дот-анализов, и т.п.)

Различные аспекты Бионанотехнологии связаны с разработкой и созданием лекарственных средств для животных, диагностических систем для контроля безопасности и качества сырья и продуктов животного происхождения. Тест-систем по определению инфекционных заболеваний у животных, биоцидов для создания средств, обеспечивающих ветеринарно-санитарное благополучие животноводческих комплексов и перерабатывающих предприятий. Одним из аспектов бионанотехнологии является ДНК-иммуномикрочиповая технология. Она предназначена для одновременной качественной количественной оценки нескольких образцов продукции. Другим направлением бионанотехнологии является разработка и внедрение экспрессных тест-систем контроля безопасности объектов ветеринарного надзора (животноводческих и про-

изводственных помещений перерабатывающих предприятий, сырья и продукции животного происхождения) на основе иммунохроматографических индикаторных элементов с наночастицами коллоидного золота. Весьма перспективным представляется направление с применением наносеребра в качестве биоцидов, что является альтернативой использования антибиотиков или дезинфектантов на основе различных химических соединений. Нами разработаны лекарственные средства на основе кластерного серебра для лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний и болезней печени животных, разработаны и адоптированы методики контроля продукции на содержание антибиотиков и сульфаниламидов на основе иммуномикрочиповой технологии, а также генетически модифицированных организмов и сальмонелл на основе иммунохроматографии.

PROSPECTS OF APPLICATION OF BIONANOTECHNOLOGY FOR SAFETY OF PRODUCTS AND TREATMENT OF ANIMALS

[1]Usha B.V., [2]Svetlitchkin V.V.,[1] Kontsevova A.A.

In modern representation nanotechnology is an area of fundamental and applied science and the equipment, based on methods of research, the analysis, and also production at a manipulation with separate atoms and molecules (DNA, proteins etc.). Bionanotechnology is the nanotechnology section which is engaged in studying and impact of objects of nanorange on biological objects and their use for nanomedicine development (including veterinary nanomedicine), engaged in creation of nanodrugs, diagnostic systems on the basis of nanoparticles (immunokhromatografichesky tests, a pillbox analyses, etc.)

Bionanotekhnologiya's various aspects are connected with development and creation of medicines for animal, diagnostic systems for control of safety and quality of raw materials and products of an animal origin. Test systems by definition of infectious diseases at animals, biocides for creation of the means providing veterinary and sanitary wellbeing of livestock complexes and the processing enterprises. One of aspects of bionanotechnology is the DNA-immunomicrochip technology. It is intended for a simultaneous quality quantitative standard of several product samples. Other direction of bionanotechnology is development and deployment of express test monitoring systems of safety of objects of veterinary supervision (livestock and production premises of the processing enterprises, raw materials and production of an animal origin) on the basis of immunokhromatografichesky indicator elements with nanoparticles of colloidal gold. Very perspective the direction with nanosilver application as biocides that is alternative of use of antibiotics or disinfectants on the basis of various chemical compounds is represented. We developed medicines on the basis of cluster silver for treatment and prevention of gastrointestinal diseases and diseases of a liver of animals, are developed and are adapted techniques of control of production on the maintenance of antibiotics and sulfanilamidum on the basis of immunomicrochip technology, and also genetically modified organisms and salmonellas on the basis of an immunochromatography.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХМУЛЬТИПОТЕНТНЫХСТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЕ

Уша Б.В.,
академик РАСХН, профессор, д.вет.н.,
Луцай В.И.,
доцент, к.вет н.,
Вишневский А.А.
профессор, д.м.н.
ФГБОУ ВПО Московский государственный университет пищевых производств,
ФГУ «Институт хирургии им. А.В. Вишневского Росмедтехнологий»
Emal: recaro21@bk.ru

Целью работы, являлось выяснить влияние мультипотентных мезенхимальных стромальных клеток на репаративный остеогенез при замещении реберного дефекта, аллогенным деминерализованным костным трансплантантом.

По современным литературным данным костнозамещающие биотрансплантанты должны обладать рядом свойств:

1) остеоиндукцией – запускать остеогенез, активно побуждая остеобласты и другие мезенхимальные клетки, к формированию кости;

2) остеокондукцией – служить материалом для образования новой кости в ходе репаративного остеогенеза и обладать способностью направлять ее рост;

3) биодеградацией – способность биотрансплантанта полностью замещаться материнской костью.

Выводы:

1. Мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки, заселенные в костный дефект ребер, проявляют как остеоиндуктивные так остекондуктивные свойства.

2. Наиболее выраженное стимулирующее действие на репаративный остеогенез мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки оказывают на 30-е сутки. У опытной группы более высоким оказалось значение параметров, свидетельствующих об активности процессов компактизации (увеличение доли зрелого костного матрикса), более интенсивной дифференциации костного вещества по сравнению с контрольной группой.

3. Стимулирующее действие на репаративный остеогенез мультипотентные мезенхимальные стромальные клетки оказывают, так же и на 60-е сутки, которое выразилось у опытной группы более быстрым созреванием костного регенерата.

4. Гистоморфологических различий в костных дефектах реберного каркаса между контрольными и опытными группами на 90-е сутки нами не обнаружено.

APPLICATION OF MESENCHYMALMULTIPOTENTNYSTROMALNY CAGES IN VETERINARY MEDICINE

Lutsay V.I.

The work purpose, was to find out influence of multipotentnymesenchymalstromalny cages on reparativnyosteogenesis at replacement of costal defect, the allogenny demineralized bone transplantant. According to modern literary data kostnozameshchayushchybiotransplantant have to possess a number of properties:

1) osteoinduction – to start osteogenesis, actively inducing остеобласты and other mesenchymal cages, to bone formation;

2) osteoconduction – to serve as a material for formation of a new bone during reparativnyosteogenesis and to possess ability to direct its growth;

3) biodegradation – ability of a biotransplantant completely to be replaced with a maternal bone.

Conclusions:

1. Multipotentnye the mesenchymalstromalny cages occupied in bone defect of edges, show as osteoinductive so ostekonduktivny properties.

2. Multipotentnymesenchymalstromalny cages have the most expressed stimulating effect on reparativnyosteogenesis on the 30th days. The skilled group higher had a value of the parameters testifying to activity of processes of compaction (increase in a share mature bone матрикса), more intensive differentiation of bone substance in comparison with control group.

3. Multipotentnymesenchymalstromalny cages have stimulating effect on reparativnyosteogenesis, as and for the 60th days which was expressed at skilled group by faster maturing bone регенерата.

4 . Gistomorfologichesky distinctions in bone defects of a costal framework between control and skilled groups for the 90th days us it isn't revealed.

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СОХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО БИОРАЗНООБРАЗИЯ ЖИВОТНОГО МИРА

Багиров В.А., Кленовицкий П.М.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства РАСХН, п. Дубровицы, Московская обл., 142132

Создан криобанк генетического материала редких и исчезающих видов, а также разработана универсальная среда для криоконсервации сперматозоидов, метод оценки качественных и количественных показателей с использованием систем компьютерного анализа качества и морфометрических показателей семени разных видов животных с использованием прикладных программных обеспечений.

В настоящее время в криобанке имеется полноценный генетический материал от таких редких и исчезающих видов животных как архара памирской популяции, снежного барана якутской популяции, сибирского козерога алтайской популяции, яка памирской, алтайской популяций, зубра алтайской популяции, тура Карачаево-Черкесской популяции, сайгака калмыцкой популяции и овцебыка таймырской популяции.

Использование криобанка позволяет производить обмен генетическим материалам между популяциями. Основой прогресса в животноводстве является генетическая изменчивость признаков. Генетическое разнообразие диких видов является идеальным резервом для создания новых высокоэффективных селекционных форм животных. Однако использование генетических ресурсов дикой фауны существующими классическими методами малоэффективно, а в большинстве случаев невозможно.

Биотехнологические методы являются наиболее эффективным способом интродукции высокоценного генетического потенциала дикой фауны для создания новых селекционных форм. Технология криоконсервации эпидидимального и тестикулярного семени является одним из эффективных методов сохранения генетических ресурсов редких, уникальных и исчезающих видов животных, а также создания новых селекционных форм животных. Поставленные во-

просы имеют фундаментальное значение для решения проблем эффективного использования генетических ресурсов дикой природы.

Нами получены межвидовые гибриды архара и снежного барана с романовской породой овец, сибирского козерога с зааненской козой, памирского яка с черно-пестрой породой крупного рогатого скота, которые являются основой создания новых высокоэффективных селекционных форм сельскохозяйственных животных.

BIOTECHNOLOGICAL METHODS FOR CONSERVATION OF WILDLIFE GENETIC BIODIVERSITY.

Bagirov, VA, Klenovitsky PM

VIG, All-Russia Research Institute for Animal Husbandry RAAS, 142132, Moscow reg., Podolsk district, p.Dubrovitsy

The cryobank of genetic material of rare and endangered species was created. The universal medium for cryopreservation of sperm cells, the method of qualitative and quantitative indicators, using computer systems and morphometric analysis of the quality indicators of sperm in different species using the application software were developed.

At present, in the cryobank there is the genetic material from the rare and endangered species like the argali of Pamir population, Yakut population of bighorn sheep, Altai population of ibex, Altai and Pamir populations of yak, the Altai population of bison, mountain goat of Karachay-Cherkessia population, saiga of Kalmyk population and muskox of Taimyr population.

The use of cryobank allows the transfer of genetic material between populations. The basis for progress in animal industry is a genetic variability. Genetic diversity of wild species is an ideal reserve for the creation of new forms of important breeding animals. However, the use of genetic resources of wildlife by conventional methods is non-effective and in most cases is impossible.

Biotechnological methods are the most effective way of introduction of the important genetic potential of wildlife species in creating of new forms for animal selection. The epididymal and testicular sperm cryopreservation technology is one of the effective methods for genetic conservation of rare, unique and endangered species of animals and creating of new forms. These problems have fundamental importance for the efficient use of wildlife genetic resources.

We obtained interspecific hybrids of argali and bighorn sheep with the Romanov's breed sheep, ibex goat with Zaanenskaya breed, Pamir population of yak with the black and white breed of cattle, which are the basis for the creation of new highly selective forms for animal industry.

УДК 636.2.034:636.08.003:578.82/.83:577.2.08

ГЕНОДИАГНОСТИКА ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА*

Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А., Виноградова И.В., Эрнст Л.К.

ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства Россельхозакадемии, п. Дубровицы, Московская обл., 142132

Лейкоз крупного рогатого скота (ВЛКРС) занимает первое место в структуре инфекционных заболеваний вирусной природы в Российской Федерации. Инфицирование лейкозом высокопродуктивных коров представляет собой значительную угрозу генофонду крупного рогатого скота страны, что в свою очередь приводит как к снижению биоразнообразия, так и к повышению рисков различного уровня для человека и животных. В настоящее время разработано ряд высокоэффективных тест-систем, основанных на определении генов env, gag или pol ВЛКРС

методом ПЦР с использованием биоматериала крупного рогатого скота, с целью детекции, а так же генетической идентифицикации типа вируса. Анализ имеющихся в базах данных последовательностей вируса, позволил создать и успешно апробировать тест-систему «гнездовой» ПЦР с последующим ПДРФ анализом для установления генотипа ВЛКРС. Совмещение данных ПЦР-ПДРФ анализа гена env ВЛКРС по трем ферментам позволило достоверно идентифицировать тип ВЛКРС – японский, австралийский или бельгийский, а также выявить смешенную инвазию разными типами вируса у одного животного, что было подтверждено секвенированием. Среди животных-вирусоносителей, чей статус подтвержден методами РИД и ПЦР, доля коров, инфицированных австралийским типом вируса, составила 56,7% от общего числа животных-носителей. У восьми коров, находящихся на гематологической стадии заболевания лейкозом, установлено наличие австралийского и бельгийского типов вируса, в соотношении животных 1:1. У коров черно-пестрой породы при переходе заболевания в гематологическую стадию выявлена тенденция возрастания процента инфицированности бельгийским типом ВЛКРС на 10%. Установлена тенденция повышения большинства продуктивных показателей (уровня удоя, содержания жира в молоке, выхода молочного жира и белка) у коров различных генеалогических линий со статусом ВЛКРС «+» по сравнению ВЛКРС «-».

* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, государственный контракт 1 16.M04.11.0018. При проведении исследований использовано оборудование ЦКП «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ГНУ ВИЖ Россельхозакадемии.

GENE DIAGNOSTICS OF LEUKEMIA BOVINE VIRUS *

E.A. Gladyr, N.A. Zinovieva, I.V. Vinogradova, L.K. Ernst
All-Russian Research Institute of Animal Breeding Moscow region, Dubrovitsy, 142136

Bovine leukemia (BLV) is occupied by the first place in the structure of infectious diseases of viral nature in Russian Federation. Infecting the BLV of highly productive cows is a considerable threat the gene pool of cattle of country, that causes both the decline of biodiversity and to the increase of risks of different levels for humans and animals. Currently, there are a number of highly effective test systems based on identification of genes env, gag and pol BLV by PCR using biomaterial cattle, in order to detect, as well as identification of the genetic type of virus. An analysis of the databases of virus sequences, allowed to create and successfully approved a test system of “nested” PCR followed by RFLP- analysis to determine genotype BLV. The combination of these PCR-RFLP analysis of the env gene BLV using three enzymes allowed the identification of the type of BLV — Japanese, Australian and Belgian, and to identify invasion of mixing different types of the virus from one animal, which was confirmed by sequencing. Among animals carrier of bovine leukemia virus, whose status was confirmed by PCR and RID, the proportion of cows infected with Australian-type virus, was 56.7% of the total number animals carrier of BLV. Eight cows are on hematologic stage of disease a leukemia, established the presence of the Australian and Belgian types of the virus, in a ratio of animals 1:1. For the cows of black and white breed in the transition disease to a haematological stage was showed a tendency of increasing percent of the Belgian type of BLV infection by 10%. A tendency of increase of most productive rates (milk yield level, the fat content of milk, milk fat yield and protein) in cows of different genealogical lines BLV with status “+” than BLV “-”.

ПОЛУЧЕНИЕ КЛОНИРОВАННЫХ ЭМБРИОНОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Сингина Г.Н., Лопухов А.В.
Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства,142132, п. Дубровицы Московской обл., Россия

Для создания реконструированных объектов с полезными для человека свойствами применяются различные подходы, в частности метод соматического клонирования с использованием в качестве кариопласта ядер соматических клеток. В настоящее время работы по клонированию и созданию био инженерных форм с использованием данной технологии ведутся во всем мире. Низкая эффективность метода и высокая частота аномального развития клонов указывают на необходимость проведения исследований фундаментального характера, направленных на идентификацию факторов, влияющих на функциональные изменения в яйцеклетках — донорах цитопластов и кариопластах, а также полноценность клонированных эмбрионов. В России имеются единичные сообщения о получении клонированных эмбрионов крупного рогатого скота, но отсутствуют такие данные в отношении переноса ядер соматических клеток у свиней.

В последние годы в центре биотехнологии и молекулярной диагностики животных ВИЖ осуществлялась работа по исследованию факторов, влияющих на эффективность отдельных этапов соматического клонирования, что позволило смоделировать технологию получения клонированных эмбрионов с использованием в качестве кариопластов эмбриональных фибробластов свиней. При проведении оценки результативных показателей данной технологии было установлено, что доля созревания ооцит-кумулюсных комплексов, определяемая по количеству ооцитов с первым направительным тельцем, составляет 83,9%. После процедуры энуклеации и пересадки соматических клеток наблюдалось формирование 71,1% морфологически нормальных комплексов цитопласт/кариопласт. Использование модифицированного метода электрослияния и электроактивации позволило получить 84,4% цитогибридов, из которых 27,2% достигали стадии бластоцисты на 6 день культивирования. Полученные данные свидетельствуют об эффективности метода и его соответствии мировому уровню.

PRODUCTION OF CLONED EMBRYOS OF FARM ANIMALS

G.N. Singina, A.V. Lopukhov
All-Russian Research Institute of Animal Husbandry, Dubrovitsy, Moscow region, 142132 Russia

Different approaches are applied for creation of reconstructed objects with features useful for humans, particularly the method of somatic cloning using somatic cell nuclei as a karyoplast. At present, works on the cloning and creation of bioengineering forms with the use of this technology are conducted all over the world. A low efficiency of the method and a high frequency of the clone abnormal development point to the necessity of performing fundamental investigations directed to the identification of factors affecting functional changes in eggs–donors of cytoplasts and in karyoplasts as well as the adequacy of cloned embryos. In Russia, there are sporadic reports about production of cattle cloned embryos, but such data concerning somatic cell nuclear transfer in pigs are absent.

At the Center of Animal Biotechnology and Molecular Diagnostics of All-Russian Research Institute of Animal Husbandry, the work on investigation of factors influencing the efficiency of separate steps of somatic cloning was carried out during the last few years, permitting to model a technology of producing cloned embryos using pig embryo fibroblasts as karyoplasts. When assessing resultant parameters of this technology, it was established that the fraction of matured oocyte-cumulus

complexes, determined by the quantity of oocytes with the first polar body, amounted 83.9%. After the procedures of enucleation and somatic cell transfer, the formation of 71.1% of morphologically normal cytoplast/karyoplast complexes was observed. The use of the modified method of electrofusion and electroactivation allowed producing 84.4% of cytohybrids, 27.2% of which attained the blastocyst stage on the 6th day of culture. The data obtained indicate the efficiency of the method and its compliance with the world level.

РЕТРОВИРУСНЫЕ ВЕКТОРЫ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ПУТЬ ПЕРЕНОСА РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК В ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ ЛИНИИ КУР С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ ТРАНСГЕННЫХ КУР

Волкова Н.А.,Фомин И.К., Зиновьева Н.А.

Всероссийский государственный научно-исследовательский институт животноводства РАСХН, п. Дубровицы, Московская обл., 142132

Опосредованный ретровирусами перенос генов является одним из альтернативных путей создания генетически модифицированной птицы, характеризующийся по сравнению с традиционными методами доставки ДНК высокой эффективностью трансформации клеток-мишеней. С целью разработки и последующего внедрения данной технологии нами был проведен ряд экспериментов по изучению влияния различных факторов на эффективность доставки экзогенной ДНК в эмбриональные клетки кур. В работе были использованы ретровирусные векторы, полученные на основе вируса лейкемии Молони (Mo-MLV), содержащие репортерные гены lacZ и GFP. Для упаковки ретровирусных векторов были использованы пакующие линии PG13 и GPenvAM12. Результативность переноса рекомбинантной ДНК в эмбриональные клетки кур была показана в экспериментах какinvitro, так и invivo. Высокая эффективность генетической трансформации эмбрионов кур была установлена при введении ретровирусных векторов в дорсальную аорту на третий день эмбриогенеза. В данном случае общая эффективность трансгенеза (отношение полученных трансгенных кур к общему числу проинъецированных эмбрионов, выраженное в процентах) достигала 12% в зависимости от генной конструкции. При этом независимо от используемой генной конструкции интеграция ДНК генной конструкции была установлена в одних и тех же органах, а характер экспрессии рекомбинантных белков в данных органах был практически идентичным. Экспрессия рекомбинантных белков наблюдалась, преимущественно, в клетках сердца, печени, мышц, кишечника, желудка и репродуктивных органах, что свидетельствует о возможности использования ретровирусных генных конструкций для трансформации эмбриональных клеток кур с целью создания трансгенной птицы.

THE USE OF RETROVIRAL VECTORS IS THE PROMISING WAY OF GENE TRANSFER IN EMBRYOS OF CHICKEN FOR THE GENERATION OF TRANSGENIC BIRDS

Volkova N.A., Fomin I.K., Zinovieva N.A.
All-Russian State Research Institute of Animal Breeding of the Russian Academy of Agricultural Science, Dubrovitzy, Moscow Region, 142132

Retroviral gene transfer is one of the pathways to introduce of foreign genes in animals that is characterized high efficiency comparing with more conventional methods of DNA transfer. In our work we have studied the influence of different factors on the efficiency of gene transfer in embryonic cells of chicken. For this aim it has been used the retroviral vectors based on Moloney murine leukemia virus genome (Mo-MuLV) that contained genes of lacZ and GFP. Recombinant retroviral viruses were produced by using of two different packaging cell lines, PG13 and GPenvAM12. The efficiency of gene transfer in embryos of chicken was studied in the different conditions *in vitro* and *in vivo*. It has been shown that the highest efficiency of gene transfer was reached after the introduction of viruses in the dorsal aorta on third day of embryogenesis. The overall efficiency of the generation of mosaic chicken by using of this method was about 12%. The expression of marker genes was shown in the cells of heart, liver, muscle, intestines, stomach, and gonads. This evidences that retroviral vectors are a powerful tool for biological research and opens new avenues for genetic manipulation in birds.

КРУГЛЫЙ СТОЛ
«ЛЕСНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ: ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ К ИННОВАЦИЯМ»

SEMINAR
"FOREST BIOTECHNOLOGY: FROM THE RESEARCH TO THE INNOVATIONS"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОВ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЫРАЩИВАНИЯ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА С ЗАКРЫТОЙ КОРНЕВОЙ СИСТЕМОЙ В ЛЕСНЫХ СЕЛЕКЦИОННО-СЕМЕНОВОДЧЕСКИХ ЦЕНТРАХ

Бурцев Д.С.
ФБУ «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства»

В Российской Федерации активно вводятся в эксплуатацию лесные селекционно-семеноводческие центры. В таких центрах выращивают посадочный материал с закрытой корневой системой. Себестоимость такого производства довольно высока. Повышение эффективности выращивания сеянцев и снижение их себестоимости может быть достигнуты рядом мер: внедрение многоротационных схем выращивания, удлинение вегетационного периода, использование селекционно-улучшенных семян и т.д. Также в этом процессе могут найти широкое применение и методы биотехнологии, например, искусственная микоризация питательного субстрата, которая может, как повышать интенсивность роста сеянцев в питомнике, так и их устойчивость после высадки на лесокультурную площадь.

Другое направление применения биотехнологий ведет к увеличению затрат на выращивание посадочного материала, но может существенно повысить рентабельность работы таких центров за счет увеличения качества и отпускной цены получаемой продукции. Для этого в производства могут быть внедрены методы микроклонального размножения, в т.ч. получения «искусственных семян». Полученный, таким образом, посадочный материал будет пригоден для создания лесных плантаций.

PERSPECTIVES OF USING BIOTECHNOLOGY METHODS TO IMPROVE THE EFFICIENCY PLANTING STOCK WITH PROTECTED ROOT SYSTEM IN FOREST BREEDING AND SEED CENTERS

Burtsev D.S.
«Saint-Petersburg Forestry Research Institute»

In the Russian Federation, active commissioning forest breeding and seed production centers. In such centers grow planting stock with protected root system. Cost of this production is quite high. Improving the efficiency of seedlings and reduce their cost can be achieved by a number of measures: the introduction of schemes multirotational growing, lengthening of the growing season, the use of selection and improved seeds, etc. Also in this process can be widely used and methods of biotechnology, for example, artificial mycorrhization growing medium that can, how to raise the growth rate of the seedlings in the nursery, and their sustainability after planting on the reforestation area.

Another direction of biotechnology leads to higher costs for growing planting stock, but can significantly improve the profitability of such centers by increasing the quality and selling price of the manufactured products. For this purpose, the production can be implemented micropropagation techniques, including obtain "artificial seeds". The resulting, so planting stock will be suitable for the forest plantation

БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ РАЗВИТИЯ СОВРЕМЕННОЙ ПРЕПАРАТИВНОЙ БАЗЫ ЗАЩИТЫ ЛЕСА

Гниненко Ю.И., Сергеева Ю.А.
Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства, г. Пушкино Московской обл., ул. Институтская 15

Кризисное развитие страны в конце 90-х лет XX века и в начале XX1 века привело к тому, что в настоящее время арсенал средств защиты леса крайне обеднен. Если в СССР для защиты леса была возможность использовать 8 вирусных, 6 бактериальных и 2 грибных препарата, то в настоящее время в Государственном Каталоге пестицидов и агрохимикатов, разрешенных к применению на территории России, имеется всего два бактериальных препарата, а фактически применение находит только один бактериальный препарат.

Для преодоления столь плачевного состояния необходимо в самые ближайшие годы сосредоточить усилия на разработке нового поколения вирусных и грибных препаратов, на создание технологий использования энтомофагов для защиты леса. Биологизация средств защиты леса должно создать в практике лесозащиты ситуацию, при которой использование средств химии стало бы редким явлением и такое применение было возможно только в рамках интегрированных систем защиты конкретных лесных участков. Это снимет химический пресс с лесных сообществ, создаст условия, при которых невозможно формирование резистентности вредных организмов к пестицидам, и при условии безусловно надежной защиты леса от вредных организмов.

Новым вызовом для лесозащиты является все более учащающееся проникновение в леса новых инвазивных организмов, которые создают реальную угрозу разрушения аборигенных лесных сообществ. Предотвратить гибель леса от таких организмов возможно только на путях своевременной разработки биотехнологических программ. В их основе должно лежать детальное изучение особенностей биологии инвазивных организмов в новых местах обитания, изучение эффективных регулирующих факторов в местах их природного распространения и разработка интегрированных систем защиты леса, основанная на использовании всего комплекса приемов биологической защиты.

BIOTECHNOLOGIES TO DEVELOP UPDATED PREPARATION BASED FOREST PROTECTION

Gninenko Yu.I., Sergeeva Yu.A.
Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry, Pushkino, Moscow region. Institutskaya str. 15.

National crisis development in late 90-es of the XX century and early XXI century resulted in a rather scarce range of forest protection agents. In the USSR there were 8 virus, 6 bacterial and 2 fungus preparations available in forest protection now the State Pesticides and Agrochemicals Catalogue

lists just two bacterial preparations while only one is applied in fact.

To overcome this poor situation our efforts should be focused on development of a new generation of virus and fungus preparations entomophage application technologies in forest protection. Forest protection agent biologization should result in forest protection practices when chemical applications are rare and such applications are feasible within integrated protection frameworks for specific forest areas. It will relieve the chemical press on forest communities and establish conditions when harmful organisms resistance to pesticides is impossible provided a safe forest protection against hazardous organisms.

More frequent invasive organism infestations in our forests that present a real hazard of native forest community destruction is a new forest protection challenge. Updated biotechnological program developments will enable forest mortality due to these organisms. They should be based on comprehensive studies of invasive organism biological specifics in new habitats and efficient regulating factors in their native habitats and development of integrated forest protection arrangements based on the whole range of biological protection applications.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ЛИГНИФИКАЦИИ ОСИНЫ МЕТОДАМИ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ

Ковалицкая Ю.А., Шестибратов К.А.

Филиал федерального государственного бюджетного учреждения науки института биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН. 142290 Московская обл. г. Пущино, пр-т Науки, д. 6.

Известно, что в естественных условиях произрастания встречаются древесные растения с пониженным содержанием лигнина в древесине (*Novaes E. et all, 2010*) и без нарушений роста. В тоже время, трансгенные растения с редукцией лигнинов не всегда сохраняют свои ростовые показатели (*Wagner A. et all., 2009., Voelker S.L.et all.,2010*). В регуляции процесса формирования древесины принимает участие более 40 000 генов. Лигнификация – это один из процессов формирования древесины, включающий синтез, транспорт и полимеризацию монолигнолов. До настоящего момента остаются слабо изученными механизмы обратной связи в регуляции синтеза монолигнолов, а также роль лакказ в их полимеризации. Для исследования выбран подход РНК-интерференционного ингибирования экспрессии нативного гена 4-кумарат-КоА-лигазы (*4CL*) и суперэкспрессии рекомбинатной лакказы 072 из гриба *Trametes hirsute.*

Методом агробактериальной трансформации получены растения осины *Populus tremula*, содержащие РНК-интерференционную конструкцию *4CL* (12 линий) и растения осины, содержащие ген *Lac* рекомбинантной лакказы из гриба *Trametes hirsute* (33 линии). Трансгенный статус всех трансформантов подтвержден методом ПЦР-анализа. У трансформантов *4CL* при выращивании их в условиях защищенного грунта зафиксированы различные изменения ростовых характеристик и свойств лигноцеллюлозы: снижение содержания лигнинов на 11-23% (6 линий, например PtXIII4CL2c, PtXIII4CL4a), снижение содержания целлюлозы на 8-14% (линии PtXIII4CL1c, PtXIII4CL2c, PtXIII4CL3a, PtXIII4CL4a), покраснение древесины (9 линий), редукция роста (линия PtXIII4CL2c, PtXIII4CL3a). У линий PtXIII4CL1c и PtXIII4CL4a нарушений в росте не обнаружено.

Анализ активности рекомбинантной лакказы в трансгенных растениях осины с геном *Lac*, показал ее превышение в 1,5-2,3 раза по отношению к контролю, как в тканях *in vitro*, так и в листьях тепличных растений. В настоящее время трансгенные растения с геном *Lac* проходят испытания в условиях защищенного грунта, по предварительным данным хорошо укореняются и не отличаются по ростовым показателям от контрольных растений. Для оценки влияния су-

перэкспрессии рекомбинантной лакказы 072 из гриба *Trametes hirsute* на свойства древесины необходимо получить образцы трансгенной древесины и дальнейшие исследования.

THE STUDY OF LIGNIFICATION PROCESSES BY GENE ENGINEERING

Kovalitskaya Yu.A, Shestibratov K.A.
Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry
Russian Academy of Sciences. 142290 Moscow Region. Pushchino, Avenue of Science, 6.

We know that in the natural growing conditions occur woody plants with reduced lignin in wood (*Novaes E. et al, 2010*) and without grow problems. At the same time, the transgenic plants with the reduction of lignin did not always keep their growth rates (*Wagner A. et al., 2009., Voelker SL et al., 2010*). In the regulation of wood formation process involved more than 40 000 genes. Lignification – is one of the processes of formation of the wood, including the synthesis, transport, and polymerization of monolignols. Until now, remain poorly of understood feedback mechanisms in the regulation of monolignol synthesis and the role of laccases in their polymerization. Approach chosen for the study is the RNA interference inhibiting the expression of the native gene 4 kumarat-CoA ligase (4CL), and overexpression of the recombinant laccase 072 of fungus *Trametes hirsute*.

By the help of Agrobacterium transformation method we derived plants aspen *Populus tremula*, containing an RNA interference construction 4CL (12 lines) and aspen plants containing the recombinant laccase gene *Lac* from the fungus *Trametes hirsute* (33 lines). The transgenic status of all transformants was confirmed by PCR analysis. In 4CL transformants grown in greenhouse recorded various changes of growth characteristics and properties of lignocellulose: reduction of lignin in the 11-23% (6 lines, PtXIII4CL2c, PtXIII4CL4a), reduction of cellulose content by 8-14% (line PtXIII4CL1c, PtXIII4CL2cб PtXIII4CL3a, PtXIII4CL4a), red wood (9 lines), the reduction of growth (line PtXIII4CL2c, PtXIII4CL3a). There are no growth anomalies in lines PtXIII4CL1c and PtXIII4CL4a.

The analysis of the activity of the recombinant laccase in plants, transformed by the gene *Lac*, showed it increase in the 1.5-2.3 times compared to the control, as *in vitro* tissues, and in the leaves of greenhouse plants. Currently, transgenic plants with the gene *Lac* tested in greenhouse, according to preliminary it root well and have not growth anomalies. To assess the impact of overexpression of the recombinant laccase 072 of fungus *Trametes hirsute* on the properties of wood it necessary to get samples of transgenic wood, and further research.

ГЕНОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМ ЛЕСНОГО ХОЗЯЙСТВА

Крутовский К.В.[1,2,3]
[1]*Научно-образовательный центр геномных исследований,*
Сибирский федеральный университет, Россия, г. Красноярск;
[2]*Отделение лесной генетики и селекции,Гёттингенский университет,*
Германия, г. Гёттинген;
[3]*Отделение по изучению и управлению экосистем,*
Техасский агро-механический университет, г. Колледж Стейшн, США

Геномные исследования основных древесных пород Российской Федерации (РФ) могут помочь в разработке высокоинформативных молекулярно-генетических маркёров, которые могут быть эффективно использованы для определения происхождения древесины, изучения и мониторинга генетической изменчивости хвойных лесов, их адаптации к изменению климата и

для создания селекционных и природоохранных программ. Эти же задачи были заявлены как наиболее приоритетные для лесного хозяйства в Комплексной программе развития биотехнологий в РФ на период до 2020 года, утверждённой Правительством РФ 24 апреля 2012 г. В настоящее время появились невиданные ранее возможности для изучения адаптации растений на геномном уровне и проведения геномной селекции с одновременным учётом большого числа генов, достигающего нескольких десятков тысяч и использованием одновременно сотен тысяч и даже нескольких миллионов генетических маркёров, полностью отражающих генотипическую изменчивость на уровне всего генома. Современные методы и подходы популяционной, ландшафтной и экологической геномики позволяют более эффективно изучать генетические основы адаптации лесных древесных видов и выделять основные гены ответственные за важные адаптивные и экономически важные признаки, которые могут быть использованы для выбора растительного материала для транслокации и селекции на рост биомассы, эффективность использования воды, содержание целлюлозы и другие признаки важные для адаптации, получения биоэнергии и производства биотоплива. Для реализации этих возможностей в лесном хозяйстве Российской Федерации необходимо создание консорциума, состоящего из специалистов в лесной генетике, геномике, и биотехнологии и разработке соответствующей программы.

GENOME STUDIES IN FORESTRY

KrutovskyK.V.[1,2,3]
[1]*Genome Research and Education Center,*
Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia;
[2]*Department of Forest Genetics and Tree Breeding,*
Georg-August-University of Göttingen, Göttingen, Germany;
[3]*Department of Ecosystem Science & Management,*
Texas A&M University, College Station, USA

Forest tree genome studies will allow obtaining very important nucleotide data that can be effectively used to develop highly informative molecular genetic markers that can be efficiently used to determine timber origin, to study and monitor genetic variation in forests and their adaptation to climate change, as well as to develop conservation genetic and breeding programs. The same objectives were also declared the highest priority for forestry in the Complex Program of Biotechnology Development in the Russian Federation till 2020 that was approved by the Government of the Russian Federation on April 24, 2012.There are now new opportunities to study plant genetic adaptation at the genome-wide level and to do genomic selection using simultaneously thousands of genes and millions of genetic markers that represent the entire genome variation. Modern methods and tools of population, landscape, and ecological genomics allow to study the genetic basis of adaptation in forest tree species and also to detect the main genes responsible for important adaptive and economic traits that can be used in assisted gene migration and tree breeding for biomass growth, water use efficiency, cellulose content, and other traits important for adaptation and bioenergy and biofuel production. To implement these opportunities into the Russian forestry it seems necessary to create a consortium of experts in forest genetics, genomics, and biotechnology that can develop and supervise a sound scientific program appropriate for these very important tasks.

УСКОРЕНИЕ РОСТА ДРЕВЕСНЫХ ЛЕСНЫХ ПОРОД С ПОМОЩЬЮ РЕКОМБИНАНТНОГО ГЕНА ГЛУТАМИН СИНТЕТАЗЫ

Лебедев В.Г.[1], **Салмова М.А.**[1], **Розова Х.А.**[2], **Шестибратов К.А.**[1]
[1]*Филиал ФГБУН Института биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, 142290, Московская обл., г.Пущино, пр-т Науки, д. 6*
[2]*Филиал МГУ им. М.В. Ломоносова в городе Пущино, 142292, Московская обл., г.Пущино, м-н "В", д. 20а*

Азот является основным питательным элементом для растений и доступность его неорганических форм часто является лимитирующим фактором их роста. С целью повышения продуктивности лесных пород мы клонировали ген глутамин синтетазы GS1 сосны обыкновенной и путем агробактериальной трансформации перенесли его в растения осины (*Populus tremula*) и березы (*Betula pubescens*). Полученные трансгенные растения оценивались в течение трех лет в условиях теплицы (2009-2010) и открытой площадки (2011). У осины с геном GS1 наблюдалось увеличение высоты растений до 23%, а объема древесины – до 41%. Среди растений березы было обнаружено две линии с ослабленным (на 25-31%) и одна линия с усиленным (на 41%) ростом. Объем древесины этих линий был на 26-49% ниже или на 74% выше по сравнению с контролем. Содержание общего азота во флоэме растений осины коррелировало с их высотой. Измерение клеток ксилемы выявило значительное утолщение (до 2,5 раз) клеточной стенки у трансгенных растений осины, но не у березы. Анализ листьев с помощью программы LAMINA не показал существенных различий по основным параметрам, хотя некоторые линии значительно отличались от контроля по округлости листьев (до 6%) или количеству зубчиков (11%). Для определения возможного влияния трансгенных растений на почвенную экосистему в конце каждого вегетационного сезона мы оценивали активность почвенных ферментов. Была проанализирована активность таких ферментов, как дегидрогеназа, нитрат редуктаза, щелочная фосфатаза и арилсульфатаза, включенных в циклы углерода, азота, фосфора и серы, соответственно. Различия между трансгенными растениями и контролем были несущественными, за исключением нескольких линий, однако обнаруженные изменения не повторялись в последующие годы.

ENHANCING GROWTH OF FOREST TREES USING RECOMBINANT GLUTAMINE SYNTHETASE GENE

Lebedev V.G.[1], **Salmova M.A.**[1], **Rosova C.A.**[2], **Schestibratov K.A.**[1]
[1]*Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, 142290, Moscow Region, Pushchino, Science avenue, 6*
[2]*Pushchino Lomonosov Moscow State University campus, 142292, Moscow Region, Pushchino, V-20A*

Availability of inorganic forms of nitrogen is frequently a limiting factor for productivity of plants. To improve productivity of forest trees we transformed aspen (*Populus tremula*) and birch (*Betula pubescens*) plants by pine glutamine synthetase gene. Control and five transgenic lines were grown in pots under greenhouse (2009-2010) and open air (2011) conditions. Height of transgenic aspen plants was enhanced up to 23% and volume of wood – up to 141% to control plants. Two lines with decreased growth and one line with highly enhanced growth were identified within birch plants. Compared with the control plants, the height were reduced by 25-31% or increased by 41%, respectively. The wood volumes of these lines were 26-49% smaller or 74% greater than control plants. Total nitrogen content

in phloem of aspen lines was correlated with its height. Fiber parameters (length, diameter and wall thickness) were not significantly affected by GS1 gene expression in birch plants. In contrast, fibers of transgenic aspen were significantly wider (up to 3.1-fold) and had thickened cell wall (up to 2.5-fold) compared with controls. Analysis of aspen and birch leaves by LAMINA program showed no differences in leaf area, perimeter, length, width, symmetry, etc. However circularity and number of leaf serrations were differed between control and some transgenic lines. For evaluation of potential risk of transgenic trees soil enzyme activities were analyzed annually at the end of the growing season. Results of analysis did not differ significantly between transgenic and control plants.

БИОТЕХНОЛОГИИ В ЛЕСНОМ СЕКТОРЕ РОССИИ

Лукина Н.В.[1], Чуйко В.А., Шестибратов К.А., Цикавый А.Д.[2]

[1]*Центр по проблемам экологии и продуктивности лесов Российской академии наук, 117997 ул. Профсоюзная 84/32, Москва*

[2]*РАО БУМПРОМ, 119019, Филипповский пер, д. 9, офис 23*

[3]*Филиал Института биоорганической химии имени академиков М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, 142290 Проспект Науки, д. 6, Пущино.*

Комплексная программа развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 года (БИО-2020), разработанная Технологической Платформой «БиоТех2030», призвана придать импульс развитию биоэкономики в России и, в частности, развитию нового направления в лесном секторе экономики – лесной биоэкономики. Биотехнологии в лесном секторе используются в практике защиты лесов, создания новых форм древесных растений с заданными признаками, производстве посадочного материала, оценке качества семенного материала, мониторинге фитосанитарного состояния питомников и лесных насаждений, а также в глубокой переработкедревесины, утилизации отходов, домостроении. Для реализации БИО-2020 рабочая группа «Лесной сектор» БиоТех2030 разрабатывает дорожную карту. В дорожную карту включены следующие основные направления развития лесных биотехнологий: применение биотехнологий для управления лесонасаждениями, применение биотехнологий для сохранения и воспроизводства лесных генетических ресурсов, создание биотехнологических форм деревьев с заданными признаками, биологические средства защиты леса, производство ферментов, производство биодеградируемых полимеров, создание биотехнологических комплексов по глубокой переработке древесной биомассы, развитие принципов биорефайнинга на основе производства целлюлозы, производство биотоплива на основе древесных отходов, производство электрической энергии и тепла из биомассы, биоремедиация, экологически чистое жилье, биологические коллекции и биоресурсные центры.

Дорожная карта включает основные группы технологий, конкретные технологии и продукты. При этом учитывается три основных этапа развития: поисковые исследования, технологические разработки и внедрения по годам (до 2020 года) с уровнем готовности каждый год. В целевые показатели включены объемы рынков, законопроекты, нормативно-правовые акты, системы мониторинга и т.д. Следующим шагом будет разработка плана реализации с обоснованием финансирования.

BIOTECHNOLOGY IN THE RUSSIAN FOREST-BASED SECTOR

Natalia V. Lukina [1], Vladimir A. Chuyko[2], Konstantin A. Shestibratov[3], Alexander D. Tsikavy[2]
[1]*Centre for Forest ecology and productivity of the Russian academy of sciences, 117997 Profsouznaya str., 84/32, Moscow*
[2]*RAO BUMPROM, 119019, Philippovsky lane, 9, room 23*
[3]*Branch of Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry RAS, 142290 Science Avenue, 6, Pushchino*

Comprehensive program for development of biotechnologies for the period up to 2020 in the Russian Federation (BIO-2020) which is designed by the Technology Platform BioTech2030 aims to give impetus to the development of bio-economy and, in particular, of forest bio-economy. Biotechnology in forest- based sector are used in the practice of protecting forests, create new forms of woody plants with desired traits, seed production, seed quality evaluation, monitoring of pest status, nurseries and forest stands, as well as wood processing, waste management, housing construction. To implement BIO-2020 the working group "Forest sector" BioTech 2030 develop a road map that includes the following main directions of forest biotechnology: the application of biotechnology for management of forest stands, the application of biotechnology to the conservation and reproduction of forest genetic resources, biotechnology of trees with desired traits, biological control agents, the production of enzymes, the production of biodegradable polymers, creation of a biotechnological complex on deep processing of wood biomass, development of bio-refining based on pulp production, the production of biofuels based of wood waste, the production of electricity and heat from biomass, bioremediation, environmentally friendly housing, Biological Collections and Bio-resource Centers.

The roadmap includes the main groups of technologies, specific technologies and products. This takes into account the three main stages of developments: exploratory research, technological development and implementation by year (until 2020). The main targets are the market size, bills, regulations, monitoring systems, and etc. The next step will be to develop an implementation plan with a rationale for funding.

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ЛЕСНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Мариев А.Н.,
Федеральное агентство лесного хозяйства, г. Москва, ул. Пятницкая, д. 59/19

В 2012 году Правительством Российской Федерации была утверждена Комплексная программа развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 г. Наибольший эффект для лесного хозяйства биотехнологии могут принести в 3-х областях: воспроизводство лесов, защита леса, контроль за лесопользованием.

Сегодня вокруг наиболее мощных центров переработки древесины сформировался дефицит транспортно доступных лесных ресурсов. Необходимо повышать эффективность процесса воспроизводства лесов. Использование современных методов ДНК-маркирования должно поднять эффективность лесной селекции. Современные технологические возможности позволяют организовать тиражирование клонов растений с ценными наследственными свойствами. Базой для такого производства должны стать 6 лесных селекционно-семеноводческих центров. Будет создан специализированный центр по изучению и воспроизводству дубрав «Дубравы России» в республике Татарстан. Отдельным направлением является селекция для целей защитного лесоразведения.

Кроме того, важно провести экономико-географический анализ перспектив создания плантаций быстрорастущих пород. До конца 2013 года будут определены пилотные регионы по развитию плантационного лесовыращивания.

Необходимо проведение инвентаризации генетического разнообразия основных лесообразующих пород. Такая инвентаризация позволит повысить эффективность селекции, выделить кандидатов в сорта популяции, организовать контроль за происхождением семян и посадочного материала, а также контроль за происхождением древесины. Очень важной является тема использования биотехнологических препаратов в защите леса. В настоящее время существует несколько перспективных вирусных и бактериальных препаратов, а также технологии применения энтомофагов. Необходимы меры государственной поддержки производства и применения биологических препаратов, имеющих маленький рынок сбыта, а также поддержка производителей на этапе испытаний и регистрации.

СПОСОБ ДЛИТЕЛЬНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO* КОЛЛЕКЦИИ БЫСТРОРАСТУЩИХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЙ СОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ И ХОЗЯЙСТВЕННОЙ ЦЕННОСТИ ИСХОДНЫХ ГЕНОТИПОВ

Машкина О.С.[1,2], **Табацкая Т.М.**[1], **Зеленина Е.А.**[1,2]
[1]*ФГУП Научно-исследовательский институт лесной генетики и селекции*
394087 Россия, Воронеж, ул. Ломоносова, д. 105; e-mail: ilgis@lesgen.vrn.ru
[2]*Воронежский государственный университет*
394006 Россия, Воронеж, Университетская пл.,1; e-mail: olga_mashkina@yahoo.com

Ранее нами был предложен подход [1], уменьшающий вероятность возникновения сомаклональной изменчивости при многолетнем хранении: редкое субкультивирование полностью сформированных микрорастений (с интервалом раз в 6-8 месяцев) на специально подобранных безгормональных питательных средах при обычных условиях климатического режима (16-ти часовой фотопериод, освещенность 2-3 клк, 24-26оС).

Свыше 5-20 лет в условиях *in vitro* таким способом нами поддерживается коллекция клонов быстрорастущих, продуктивных и устойчивых триплоидов тополя белого и сереющего, гибридов осины, узорчатых форм карельской березы, декоративных форм березы далекарлийской, гибридов и видов ивы, ольхи.

Полевые испытания рамет клонов березы и тополя после длительного (от года до 11 лет) культивирования *in vitro* выявили их внутриклоновую однородность и идентичность исходным экземплярам (по особенностям роста, габитусу, качеству древесины, плоидности, цитогенетическим и молекулярно-генетическим особенностям).

Длительно поддерживаемая (и регулярно пополняемая новыми генотипами) коллекция может быть использована для сохранения *ex situ* ценных биотипов, а так же для их селективного тиражирования, выращивания ценного стандартного посадочного материала (со снижением его себестоимости и гарантированным сохранением генетической и хозяйственной ценности исходных экземпляров) и создания лесных культур целевого назначения.

1. Машкина О.С., Табацкая Т.М., Стародубцева Л.М.Длительное микрочеренкование для массового клонального размножения карельской березы и тополя // Физиология растений. – 1999. – Т. 46,№ 6. – С. 950- 953.

METHOD OF LONG-TERM CULTIVATION OF *IN VITRO* COLLECTION OF FAST-GROWING TREES, SAFEGUARDING THE GENETIC AND ECONOMIC VALUE OF INITIAL GENOTYPES

Mashkina O.S.[1,2], **Tabatskaya T.M.**[1], **Zelenina E.A.**[1,2]
[1]*Research Institute of Forest Genetics and Breeding,*
105, Lomonosova str., 394087, Voronezh, Russia; e-mail: ilgis@lesgen.vrn.ru
[2]*Department of Genetics, Cytology and Bioengineering,*
Voronezh State University, 1, Universitetskaya square, 394006, Voronezh, Russia;
e-mail: olga_mashkina@yahoo.com

We have previously proposed an approach [1], which reduces the risk of somaclonal variation in long-term storage *in vitro*. Fully formed microplants seldom subcultivated (every 6-8 months) on a specially selected hormone-free nutrient media under normal *in vitro* conditions (16-hour photoperiod, 2-3 klx, 24-26 oC).

Over 5-20 years we have been supporting the *in vitro* collection of clones of faster-growing, productive and resistant triploids of poplar (*Populus alba* L., *P. canescens* Sm.), hybrids of aspen (*Populus tremula* L.), decorative forms of birch (*Betula pendula* Roth var *carelica* Merkl, *B. pendula "dalekarlica"* (L.f), hybrids and species of willow (*Salix* L. spp.) and alder (*Alnus* L. spp.).

Field tests of ramet of birch and poplar clones after long-term (from one year to 11 years) *in vitro* cultivation revealed their intraclonal homogeneity and identity to the original samples (on the specifics of growth, habit, wood quality, ploidy, cytogenetic and molecular genetic characteristics).

Long-term maintained and regularly updated by new genotypes collection can be used for *ex situ* conservation of valuable biotopes, as well as for the selective multiplication, growing of valuable standard plant material (with their lower cost and with guaranteed preservation of genetic and economic value of the original samples) and establishment of forest cultures of different purposes.

1. Mashkina O.S., Tabatskaya T.M., Starodubtseva L.M.Mass clonal propagation of Karelian Birch and poplar through long-term shoot multiplication // Russian Journal of Plant Physiology, 1999. – Vol. 46, No. 6. – P. 835–837.

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЛЕСНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ В БЕЛАРУСИ

Падутов В.Е.
ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»,
Беларусь, 246001 Гомель, ул. Пролетарская, 71

В Беларуси лесная биотехнология развивается последующим основным направлениям: клональное микроразмножение лесных растений; биопрепараты для защиты растений от фитопатогенов и стимуляции роста лесного посадочного материала; ДНК-фитопатологический мониторинг насаждений и лесных питомников; оценка состояния лесных генетических ресурсов, включая лесосеменное районирование и паспортизацию объектов лесосеменной базы.

По первому направлению, к настоящему времени, создана коллекция культур *in vitro* около 100 клонов 25 видов растений(береза пушистая, береза повислая, осина, тополь канадский, тополь волосистоплодный, дуб черешчатый и др.). Разработаны технологии адаптации микроклональных саженцев к произрастанию в нестерильных условиях и выращивания посадочного материала в условиях открытого и закрытого грунта.

По второму направлению. Разработаны и проходят опытно-промышленную проверку биопрепараты для стимуляции роста и развития сеянцев хвойных видов и микроклонально размноженных саженцев лиственных видов, а также их защиты от фитопатогенов.

По третьему направлению. На основе ДНК методов созданы технологии видовой диагностики более 100 фитопатогенных грибов и более 40 патогенных бактерий. Разработано несколько альтернативных методов видовой идентификации, основанные на секвенировании последовательностей ДНК, рестрикционном анализе амплифицированных локусов, ПЦР с видоспецифическими праймерами, ПЦР в реальном времени и др.

По четвертому направлению. Установлен уровень генетического разнообразия 11 основных лесообразующих древесных видов Беларуси. Проведена генетическая паспортизация более 50 лесосеменных плантаций сосны, ели и дуба. Разработано лесосеменное районирование для дуба черешчатого, основанное на анализе его хлоропластной ДНК.

MAIN TRENDS OF FOREST BIOTECHNOLOGY IN BELARUS

Padutov V.E.
State Scientific Institution "Forest Institute of the National Academy of Sciences of Belarus",
71 Proletarskaya, 246001 Gomel, Belarus

The main trends of forest biotechnology in Belarus are the following: clonal propagation of forest trees *in vitro* (1), biologics for rapid growth of planting stock and protection of plants from pathogens (2), DNA-based phytopathological monitoring of stands and forest nurseries (3) and assessment of the condition of forest genetic resources, including seed zoning and certification of seed collecting areas (4).

Trend 1: To date, a collection has been created of *in vitro* cultures of about 100 clones of 25 forest plant species, including downy birch (*Betulapubescens*), European silver birch (*Betulaverrucosa*), European aspen (*Populustremula*), eastern cottonwood (*Populusdeltoides*), black cottonwood (*Populustrichocarpa*), pedunculate oak (*Quercusrobur*) and other species. Also, technologies have been developed for adaptation of micropropagated transplants to unsterile growth conditions and for the raising of planting stock in greenhouses and forest nurseries.

Trend 2: Biologics have been developed for rapid growth of seedlings of conifers and micropropagated transplants of hardwoods and for protection of the plants from pathogens. The biologics are being subjected to experimental and production tests.

Trend 3: Technologies have been created for identification of more than 100 phytopathogenic fungi and more than 40 pathogenic bacteria using DNA methods as the base. A number of alternative methods derived from DNA sequencing, PCR using species-specific primers, real-time PCR and other techniques have been devised for identification of species of pathogenic microorganisms.

Trend 4: Levels of genetic diversity were defined for 11 main forest-forming species of Belarus. More than 50 pine, spruce and oak seed orchards were genetically certified. Limits of pedunculate oak seed zones have been defined on the basis of analysis of chloroplast DNA.

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К МОЛЕКУЛЯРНОМУ МАРКИРОВАНИЮ ЛЕСНЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

Политов Д.В.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук

Вследствие большой длительности поколения, низкой наследуемости и полигенности морфологических признаков для генетического анализа лесных древесных растений особенно ак-

туально применение молекулярно-генетических маркеров. Бурное развитие ДНК-технологий предоставляет огромный выбор молекулярных маркеров, каждый со своим набором преимуществ и недостатков. Идеальные маркеры отвечают следующим требованиям: изменчивость по ним дискретна, выявляются как гомо-, так и гетерозиготные генотипы (кодоминантность), они не подвержены модификациям в различных экологических условиях, на разных стадиях развития и в разных тканях, высокополиморфны, обладают воспроизводимостью и невысокой стоимостью разработки и применения. Для различных целей применяются ядерные и нерекомбинирующие (митохондриальные и хлоропластные) маркеры, а также сочетания разных типов маркеров. Важной областью применения молекулярных маркеров в лесном хозяйстве является *генетическая идентификация,* т.е. генотипирование организмов по набору маркеров с целью определения их видового диагноза, географического происхождения, соответствия образцов ДНК отдельных особей (например, для контроля нелегальных рубок), гибридного происхождения и т.д. На молекулярном маркировании основана генетическая паспортизация лесосеменных объектов и сертификация партий семян. Для организации охраны и рационального использования генофондов критично получение оценок и мониторинг *уровней генетического разнообразия, дифференциации и инбридинга*, т.е. количественное определение запаса и пространственного распределения генетической изменчивости, что является основой устойчивости и селекционного потенциала лесных популяций. Новые возможности открываются с развитием функциональной геномики, этот подход позволяет выявить гены адаптивно значимых и хозяйственно-ценных признаков и использовать их изменчивость в селекционном процессе.

MODERN APPROACHES TO MOLECULAR MARKER APPLICATION IN FOREST TREES

Politov D.V.
Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences

Due to long generation time, low heritability and polygenic nature of morphological traits the application of molecular genetic markers is especially relevant for genetic analysis in forest trees. Active development of DNA technologies provides a broad spectrum of molecular tools having specific advantages and shortcomings. An ideal marker should fit to the following requirements: discrete variation, co-dominance, robustness with respect to ecological and ontogenetic variability and tissue specificity. Markers should also be highly polymorphic, reproducible and cost-effective both at development and application stages. For specific applications various nuclear and non-recombining (mitochondrial and chloroplast) markers are being used as well as combined sets of markers of different types. An important field of molecular marker application in forest sector is genetic identification, *i.e.* genotyping of organisms for species (taxonomic) diagnoses, determination of geographic origin, identification of individual DNA specimens (*e.g.*, for illegal cutting control), detection of hybrid origin etc. Genetic passportization of forest tree breeding objects and seed-lot certification are also based on employment of molecular markers. Organization of conservation and sustainable use of forest tree gene pools needs screening and monitoring of extent and distribution of genetic variability, differentiation (genetic subdivision) and inbreeding levels. These parameters are basal for quantification of levels and spatial distribution of genetic variation and therefore are crucial for stability and breeding potential of forest tree stands. New perspectives appear with development of functional genomics that allows dissecting genes responsible for adaptive and economically important traits and using polymorphism for these genes in tree breeding programs.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ИННОВАЦИОННОЙ МОДЕЛИ РАЗВИТИЯ ЛЕСНОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИИ

Раздайводин А.Н.[1], **Калнин В.В.**[1], **Чубугина И.В.**[1,2], **Ромашкин Д.Ю.**[1], **Радин А.И.**[1], **Крутовский К.В.**[2,3]

[1]*ФБУ «Всероссийский научно-исследовательский институт лесоводства и механизации лесного хозяйства», Россия, г. Пушкино;*
[2]*Научно-образовательный центр геномных исследований, Сибирский федеральный университет, Россия, г. Красноярск;*
[3]*Гёттингенский университет, Германия, г. Гёттинген*

Внедрение в практику лесного хозяйства современных биотехнологий на основе генетических методов ДНК-анализа делает возможным решение следующих важных задач: молекулярное маркирование лесосеменных объектов России; идентификация происхождения лесного репродуктивного материала и лесной продукции; сохранение естественного биоразнообразия лесных сообществ на основе мониторинга генетической структуры природных популяций; обеспечение генетической безопасности на основе изучения последствий использования генно-модифицированного репродуктивного материала; изучение адаптивного потенциала лесных древесных растений в условиях техногенного загрязнения и воздействия иных стрессовых факторов; осуществление геномной селекции для создания высокопродуктивных насаждений и целевых плантаций с заданными свойствами.

Для перехода к инновационной модели развития лесного хозяйства с использованием современных достижений генетики и геномики необходимо:

- развивать тесное конструктивное взаимодействие, в том числе международное, между академическими, отраслевыми и образовательными научными учреждениями и организациями;
- обеспечить государственную поддержку инновационных разработок в области лесной биотехнологии и развитие частно-государственного партнерства;
- создать отраслевую сеть современных генетических лабораторий и научно-исследовательских центров на базе новых и существующих научных, производственных и образовательных учреждений лесного комплекса;
- разработать нормативно-правовую и методическую базу применения генетических методов в лесном хозяйстве.

PROSPECTS OF USING GENETIC METHODS IN AN INNOVATIVE MODEL OF RUSSIAN FORESTRY DEVELOPMENT

RazdaivodinA.N.[1], **KalninV.V.**[1], **ChubuginaI.V.**[1,2], **Romashkin D. Yu.**[1], **Radin A.I.**[1], **Krutovsky K.V.**[2,3]

[1]*Russian Research Institute for Silviculture and Mechanization of Forestry (VNIILM), Pushkino, Russia;*
[2]*Genome Research and Education Center, Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russia;*
[3]*Georg-August-University of Göttingen, Göttingen, Germany*

The transition of forestry to an innovative model of development requires intensive introduction of modern biotechnologies that are based on genetic methods of DNA analysis. Genetic methods allow to solve important problems in forestry, such as: genetic identification of seed orchards, forest reproductive material and forest products origin, conservation of natural biodiversity of forest communities based on genetic monitoring of genetic structure of natural populations, providing genetic security

based on monitoring of genetically-modified reproductive plant material, study of adaptive potential of forest trees under anthropogenic pollution and other environmental stress, implementing genomic selection in tree breeding for highly productive trees and plantation with desired properties.

The following conditions and measures are needed to support transition to an innovative model of development based on modern achievements of forest genetics and genomics:

• close and constructive collaboration, including international cooperation, and interaction between academic, applied research and educational organizations;

• federal support of innovations in forest biotechnology and development of joint state andprivateventures;

• network of modern genetic laboratories and research centers based on new and existing forest research, productional and educational organizations;

• legal norms and regulations and methodological basis for use of genetic methods in forestry.

МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ В ЛЕСНОМ ХОЗЯЙСТВЕ: ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Шишкина О.К , Завистяева М.А.

Федеральное бюджетное учреждение «Российский центр защиты леса», 141207, Россия, Московская обл., г. Пушкино, ул. Надсоновская, д. 13

Применение методов молекулярной биологии в лесном хозяйстве наиболее актуально на двух направлениях его развития – лесном семеноводстве и лесопатологии. В ФБУ «Рослесозащита» уже в течение нескольких лет отрабатываются и применяются методы ДНК-маркирования. В лесном семеноводстве применяются методы определения ядерной ДНК для уточнения схем смешения клонов на лесосеменных плантациях (ЛСП) и архивах клонов (АК) основных лесообразующих пород с целью оценки перспективы их дальнейшей эксплуатации или реконструкции, а также для составления генетических паспортов плюсовых деревьев, клоны которых представлены на обследуемых лесосеменных объектах. В настоящее время разрабатывается методика определения генетического и географического происхождения репродуктивного материала и любых других объектов растительного происхождения по неядерной ДНК (митохондриальной, хлороплатной, рибосомальной и т.п.). В перспективе этот метод позволит создать базу данных межпопуляционных различий такой ДНК в лесных насаждениях России, что в свою очередь даст возможность легко и быстро решить многие проблемы. Например, контролировать соблюдение правил лесосеменного районирования, оборот репродуктивного материала, круглой древесины, генетическое происхождение семян (естественное насаждение или плантация) и др. задачи. Конечным итогом этой разработки должна быть обязательная генетическая сертификация всех лесосеменных объектов.

В области лесной фитопатологии применение методов ДНК-маркирования позволяет определять наличие любой инфекции на самых ранних стадиях развития без выделения патогена в чистую культуру, что сокращает сроки исследования от нескольких недель до нескольких дней, определять источник инфекции, истинные границы очага поражения, вирулентность возбудителя, расы насекомых-вредителей и др. вопросы.

METHODS OF MOLECULAR GENETICS IN FORESTRY: RESULTS AND PROSPECTS

O.K. Shishkina, M.A. Zavistyaeva
Federal State-Funded Institution "Russian Center for Forest Protection",
13, Nadsonovskaya Street, Pushkino, Moscow Region, 141207, Russia

The application of the methods of molecular biology is the most challenging in two areas of forest management, namely forest seed production and forest pathology. For a few years, the Federal State-Funded Institution "Russian Center for Forest Protection" has been engaged in the development and application of DNA labeling methods. The methods of finding nuclear DNA are applied in forest seed production to define more exactly the patterns of clonal mixtures in forest seed orchards and clone banks of main forest tree species with the purpose of evaluating the prospects of their future exploitation or reconstruction, as well as creating genetic passports of plus trees which are presented with their clones in studied forest seed orchards. At present, the methods are being developed for determining both genetic and geographic provenance of reproductive material and any other plant objects by non-nuclear (mitochondrial, chloroplast, ribosomal, or other) DNA. These methods will eventually make it possible to establish a database of inter-population variations in such DNA in Russia's forest stands, thus allowing quick and easy solution of many problems. For instance, it will be possible to monitor compliance with the rules of forest seed zoning, reproductive material and round wood turnover, genetic provenance of seeds (natural stands or seed orchards) and complete other tasks. Ultimately, a mandatory genetic certification of all forest seed objects will be developed.

As pertaining to forest pathology, the application of DNA labeling methods will offer the possibility of determining the presence of any infection at the earliest developmental stages without extracting pathogens into a pure culture, thus reducing the period of study from several weeks to several days, and determining the source of infection, actual boundaries of lesion foci, virulence of infectious organisms, race of insect pests, etc.

ПРИМЕНЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ И СОМАТИЧСКОГО ЭМБРИОГЕНЕЗА ХВОЙНЫХ В ПЛАНТАЦИОННОМ ЛЕСОВЫРАЩИВАНИИ

Третьякова И.Н.
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт леса им. В.Н. Сукачева
Сибирского отделения Российской академии наук
660036. г. Красноярск, Академгородок, стр. 50

Одним из перспективных направлений в лесной биотехнологии за последние годы является соматический эмбриогенез – уникальная способность растительных клеток передавать имеющуюся у них генетическую информацию и давать начало новым организмам. У видов *Larix, Pinus, Picea*, *Abies,* произрастающих на территории Сибири, зиготические зародыши и мегагаметофиты, полученные от открыто,- само- и перекрестно опыленных мегастробилов, вводили в культуру *in vitro* на среду АИ (патент №2431651), на модифицированную среду 1/2LV и DCR. Все среды дополняли регуляторами роста в разных концентрациях и в разном соотношении их друг с другом, а также глютамином, гидролизатом казеина, аскорбиновой кислотой. Выявлено, что ключевыми стадиями соматического эмбриогенеза являлось растяжение соматических клеток и их асимметричное деление, образование глобулярных зародышей и их вызревание. Пролиферирующие эмбриогенные клеточные линии были получены у L.*sibirica* и *Pinus pumila.* За 1 год масса каллуса от одной клеточной линии достигала 2.0-3.5 кг. Число соматических за-

родышей в 1г. пролиферирующей эмбриональной массы у разных клеточных линий варьировало от 400 до 800 шт. Спада пролиферационной активности в эмбриогенных клеточных линиях за 24-45 месяцев культивирования не наблюдалось. Из 1 г эмбриогенного каллуса получали 50-60 регенерантов. Соматический эмбриогенез проходил под строгим генетическим контролем. Только эксплантy зародышей семян, полученные от донорских материнских деревьев с высоким репродуктивным потенциалом, формировали эмбриогенный каллус и соматические зародыши.

Таким образом, нами впервые в России были получены коллекционные клеточные эмбриогенных линии хвойных видов, способные длительное время пролиферировать и продуцировать массовые соматические зародыши. Регенеранты, полученные от этих линий, будут использованы в плантационном лесовыращивании хвойных в Сибири.

Работа поддержана РФФИ (грант № 11-04-00281) и интеграционным проектом № 140.

THE APPLICATION OF BIOTECHNOLOGY OF THE OBTAINING CONIFER CELL LINES AND SOMATIC EMBRYOGENESIS FOR ESTABLISHING FOREST PLANTATION

Tretiakova I.N.
Institute of Forest Siberian Branch RAS,
Krasnoyarsk, Russia

One of the perspective direction in forest biotechnology in the last years is somatic embryogenesis, that is an unique ability of plant cells to transform the genetical information and to give the beginning of new organisms. In species of *Larix, Pinus, Picea, Abies* growing in Siberia embryos and megagamethophytes from open, -self – and cross pollinated megastrobiles were carried out on different media: AI (patent№2431651), modified medium ½ LV and DCR. All media supplemented hormones with different concentrations and their different proportions, L-glutamine, casein hydrolysate, ascorbic acid.

It was shown, that somatic cells elongation and asymmetric division, as well as development of globules of somatic embryos and their maturation are the key stages of somatic embryogenesis. The embryogenic cell lines were obtained in *L. sibirica* and *P. pumila*. The embryogenic lines were characterized by different proliferative activity. During 1years mass of callus from one cell line was 2.0-3.5 kg. The number of somatic embryos varies from 400 to 800 per 1g of callus fresh weight in different cell lines. Decreasing proliferation activity did not observed during 24-45 months cultivation. 50-60 somatic embryos were matured per 1g. of callus fresh weight. Somatic embryogenesis pass over the strong genetic control. Only donor tree genotypes with high reproductive potential form embryogenic cell lines and somatic embryos.

Thus collection of long proliferative embryogenic cell lines of conifer species were got for the first time in Russia. Plantlets from those cell lines will be used for establishing conifer forest plantation in Siberia.

This work was supported by RFBR grants № 11-04-00281 and Integration project № 140.

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ БИОТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЛЕСОСЫРЬЕВЫХ ПЛАНТАЦИЙ

Жигунов А.В.[1], **Шестбратов А.К.**[2], **Шабунин Д.А.**[3], **Лебедев В.Г.**[2], **Бутенко О.Ю.**[3], **Григорьев А.А.**[1]

[1]*Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет, г. Санкт-Петербург,*
[2]*Институт биоорганической химии им. акад. М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова РАН, г. Москва,*
[3]*Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт лесного хозяйства, г. Санкт-Петербург*

В России наиболее широкое применение нашли методы клонального микроразмножения растений (включая соматический эмбриогенез) для ускоренного использования селекционных достижений на основе производства высококачественного посадочного материала для создания лесосырьевых плантаций. Работы по культуре *in vitro* лиственных пород родов *Populus, Betula, Salix* и *Fraxinus* ведутся достаточно давно и интенсивно. Можно прогнозировать успешное внедрение этих пород в практику плантационного лесовыращивания.

Хвойные растения являются наиболее сложными объектами для культивирования в условиях «*in vitro*», и поэтому разработка эффективной системы клонального микроразмножения для некоторых видов является актуальной задачей. Соматический эмбриогенез считается одним из наиболее перспективных методов. Его использование обеспечивает в перспективе получение «искусственных семян», что позволит существенно снизить стоимость посадочного материала. Первые работы по органогенезу *Pinus sylvestris* и *Picea abies* в России выполнены на основе использования эксплантов гипокотиля или семян. В настоящее время разработаны методы инициации органогенеза на основе использования почек плюсовых деревьев, разработаны рекомендации по адаптации полученных микрорегенерантов в торфяном субстрате в условиях пленочных теплиц, заложено несколько опытных участков лесных культур.

Применение методов генетической трансформации позволяет точечно модифицировать отдельные признаки растений: придавать растениям устойчивость к гербицидам, понижать содержание лигнинов, повышать продуктивность, т.е. создавать формы целевого назначения, которые ориентированы исключительно на плантационный способ лесовыращивания.

USING BIOTECHNOLOGY TO PRODUCE PLANTING MATERIAL FOR TIMBER PLANTATIONS

Zhigunov A.V.[1], **Shestibratov A.K.**[2], **Shabunin D.A.**[3], **Lebedev V.G.**[2], **Butenko O.Yu.**[3], **Grigoryev A.A.**[1]

[1]*St.Petersburg Forestry University, St.Petersburg,*
[2]*M.M. Shemyakin and Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow,*
[3]*St.Petersburg Forest Research Institute, St.Petersburg*

Among the biotechnological methods used in forestry, the methods of clonal micropropagation of plants (including somatic embryogenesis) are the most widely used in Russia for accelerated implementation of innovations in selection, aimed at the production of high-quality planting material for establishment of timber plantations. The studies on growing deciduous species of *Populus, Betula, Salix* and *Fraxinus in vitro* have been carried out sufficiently long and intensely. We can predict the successful implementation of these species in the practice of forest plantation growing.

Conifers are the most complicated species for cultivating '*in vitro*'. Therefore, the development of an efficient system for clonal micropropagation of coniferous species is a challenge. Somatic embryogenesis is considered one of the most promising methods. In future, it will allow for obtaining 'artificial seeds', which will result in significant decrease of the cost of planting material. The first researches on organogenesis of *Pinus sylvestris* and *Picea abies* in Russia were conducted with hypocotyl explants or seeds. Currently, the methods for initiation of organogenesis using gemmae of plus trees have been developed; guidelines for adaptation of the micro regenerants in peat substrate in greenhouses have been worked out; some experimental plots of forest plantations have been established.

Application of genetic transformation makes it possible to modify individual attributes of plants: make them resistant to herbicides, reduce lignin content, increase productivity, i.e., create purpose-oriented forms which are intended exclusively for establishing plantations.

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ АДВЕНТИВНЫХ ПОЧЕК ЕЛИ ЕВРОПЕЙСКОЙ

Черных Е.Н., Шургин А.И.
ФГБОУ ВПО «Поволжский государственный технологический университет»
424000, Россия, Йошкар-Ола, пл. Ленина, 3

Для культивирования тканей на каждом этапе требуется применение определенного состава питательной среды. На этапе микроразмножения необходимо добиться получения максимального количества растений. Для оптимального роста культивируемой ткани и морфогенеза, необходимо определить соответствующий состав среды для данного вида.

Целью этой работы было изучение влияния минерального состава питательной среды на образование адвентивных почек ели европейской.

Объектом исследования служили сегменты гипокотиля 20-ти дневных проростков ели европейской (*Picea Abies)*.

В экспериментах по изучению морфогенетических потенций использовали питательные среды, содержащие минеральные соли по DCR, WPM, MS, TE, SH и LP. Данные среды отличаются друг от друга суммарной массой солей и отдельными минеральными компонентами.

Растительный материал стерилизовали 70% спиртом в течение 30 секунд, затем в 2% растворе коммерческого препарата «Лизоформин» в течение 5 минут и промывали в стерильной дистиллированной воде в 3-хкратной повторности по 10 минут. Культивирование проводилось при температуре 21-22 ºС, фотопериоде 16/8 и интенсивности освещения 1800 лк.

Было изучено влияние минерального состава питательной среды на образование адвентивных почек на сегментах проростков ели европейской (*Picea Abies*). Полученные результаты показали, что для ели европейской наилучшей оказалась среда DCR. В этих условиях было характерно образование адвентивных почек из первичного каллуса. Минеральный состав будет взят за основу при использовании в последующих экспериментах.

THE INFLUENCE OF THE MINERAL COMPOSITION OF THE CULTURE MEDIUM ON THE FORMATION OF ADVENTITIOUS BUDS *PICEA ABIES*

Chernikh E.N., Shurgin A.I.
Volga State Technical University
424000, Russia, Yoshkar-Ola, 3 Lenin sq.

Tissue culture at each stage requires the use of a certain medium. At the stage of micropropagation to achieve with the best possible plantlets. It is necessary to determine the appropriate medium composition for the species for optimal growth of cultured tissue and morphogenesis.

The aim of this study is to research mineral composition influence on adventitious buds formation of *Picea abies* culture.

We studied hypocotyl segments 20-day-old seedlings Picea abies.

The following media containing such mineral salts as DCR, WPM, MS, TE, SH and LP were used in the experiments on morphogenetic potencies. These media differ from each other by the total mass of salts and individual mineral components.

The plant material was sterilized with 70% ethanol for 30 s and in 2% solution of the commercial preparation “Lizoformin” for 5 min and rinsed three times with sterile distilled water. Explants were grown at 21-22 ºC with 16-h photoperiod and 1800 Lx light intensity.

The influence of the mineral composition of the culture medium on the formation of adventitious buds on segments seedling Picea abies was studied. The results showed that the best medium for the spruce was the DCR. Under these conditions, it was typical to form adventitious buds from primary callus. Mineral composition will be used as a basis for the subsequent experiments.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ Р. *BACILLUS* ДЛЯ ЗАЩИТЫ ЛЕСНЫХ КУЛЬТУР ОТ БОЛЕЗНЕЙ

Молчан О.В., Носонова Т.Л., Евсегнеева Н.В., Коломиец Э.И.
Институт микробиологии НАН Беларуси,
220141, Минск, ул. Купревича, 2 Беларусь

В последние годы остро стоит вопрос защиты древесных культур в декоративном садоводстве и лесопарковом хозяйстве. Одним из серьезнейших факторов, влияющих на состояние декоративных лиственных и хвойных насаждений, является наличие грибных поражений *Rhytisma acerinum* Fr., *Phillosticta sphaeropsoidea*, *Uncinula aceris Sacc, Erysiphe flexuosa, Cylindrosporium castanicola (Desm.) Berl, Sphaeropsis sapinea*. Наносимые ими повреждения нарушают физиологические процессы, задерживают рост и развитие, вызывают преждевременный опад листьев и хвои. Все это приводит к снижению или полной потере декоративных качеств, иногда – к отмиранию отдельных частей или даже полной гибели растений.

Показана перспективность использования биологического метода защиты лесных культур, в частности, биопрепаратов на основе бактерий-антагонистов р. *Bacillus* и их метаболитов (Фитопротектин, Фрутин, Бетапротектин), как приема позволяющего снизить пестицидную нагрузку в лесо-парковых массивах и получить качественный посадочный материал.

Микроскопические исследования показали, что под влиянием бактерий-антагонистов происходит деформация мицелия фитопатогенных грибов, сопровождающаяся вакуолизацией гиф, появлением опухолеобразных вздутий и нарушением строения цитоскелета. Изменения в морфологии фитопатогенов ведут к нарушению нормального цикла развития и потере репродуктивной функции.

Биологическая эффективность использования биофунгицидов на клене остролистном и каштане обыкновенном против бурой и черной пятнистости листьев составляет 81-91%, против диплодиоза хвойных пород – 99,3%. Такие препараты предназначены для интродукции в биоценоз с целью длительной регуляции плотности фитопатогенных популяций, что является основой стратегии микробиологической защиты растений.

BIOLOGICAL PREPARATIONS BASED ON BACTERIA OF GENUS BACILLUS TO CONTROL DISEASES OF FOREST CULTURES

Molchan O.V., Nosonova, T.L., Evsegneeva N.V., Kolomiets E.I.
Institute of Microbiology, Belarus National Academy of Sciences,
Kuprevich str. 2,
220141 Minsk, Belarus

In recent years biological control of pathogens in arboreous species became a grave challenge for decorative horticulture and silviculture. One of critical factors affecting deciduous and coniferous plantations is infection caused by *Rhytisma acerinum* Fr., *Phillosticta sphaeropsoidea*, *Uncinula aceris* Sacc, *Erysiphe flexuosa*, *Cylindrosporium castanicola* (Desm.) Berl, *Sphaeropsis sapinea*. Fungal lesions impair physiological processes, inhibit growth and development, lead to premature shedding of leaves and needles. This results in reduction or complete loss of decorative properties and in some cases to decay of tree branches or even total lethal effect.

Application prospects were demonstrated for biological method of forest plant protection using biopreparations based on antagonistic bacteria of genus Bacillus and their metabolites (Phytoprotectin, Fruitin, Betaprotectin) as the technique allowing to diminish pesticide load in parkland and get high quality planting material.

Microscopic studies have revealed that bacteria-antagonists induce deformation of mycelia in phytopathogenic fungi accompanied by vacuolization of hyphae, emergence of tumor-like swellings and disruption of cytoskeleton structure. Morphological changes in phytopathogens are responsible for abnormal development cycle and loss of reproductive function.

Efficiency of biofungicide action against brown and black leaf spot of maple and chestnut ranges from 81 to 91%, against Diplodia infection of conifers – 99.3%. The afore-mentioned preparations are designed for introduction into biocenoses to secure long-term control of phytopathogen population density, which makes up the core of microbiological plant protection strategy.

ОГЛАВЛЕНИЕ
CONTENTS

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОЭТИКА»
SEMINAR “BIOETHICS”

“BIOS”: ЭТИКА И ТЕХНОЛОГИИ
Седова Н.Н. 23

“BIOS”: ETHICS AND TECHNOLOGIES
Sedova N.N. 23

НОРМЫ МОРАЛИ И НОРМЫ ПРАВА В БИОТЕХНОЛОГИИ: ОТНОШЕНИЕ ГОСУДАРСТВ МИРА К КЛОНИРОВАНИЮ ЧЕЛОВЕКА
Косовский Г.Ю., Колмычкова К.И., Футочкина В.А.. 24

MORAL AND LEGAL STANDARDS IN BIOTECHNOLOGY: WORLD’S VIEWS ON HUMAN CLONING
Kosovsky G.Y., Kolmychkova K.I ., Futochkina V.A 25

СЕКЦИЯ «БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ И МЕДИЦИНА»
SECTION “BIONANOTECHNOLOGIES AND MEDICINE”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ L-ДОФА В НАНОФОРМЕ В РАЗЛИЧНЫХ МОДЕЛЬНЫХ СИСТЕМАХ
Кондрашева И.Г., Антипова Т.А., Гамбарян П.Е., Барсегян Г.Г., Гусева А.А., Каменский А.А.. 26

THE RESEARCH OF L-DOPA’S NANOPARTICLE FORM BIOLOGICAL EFFECTS IN DIFFERENT MODEL SYSTEMS
I.G. Kondrasheva, T.A. Antipova, G.G. Barsegyan, P.Ye. Gambaryan, A.A. Guseva, A.A. Kamensky. 26

ВИЗУАЛИЗАЦИЯ МУЛЬТИФОРМНОЙ ГЛИОБЛАСТОМЫ МЕТОДОМ МРТ С ПОМОЩЬЮ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ, КОНЮГИРОВАННЫХ С МОНОКЛОНАЛЬНЫМИ АНТИТЕЛАМИ К ФАКТОРУ РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДА
Абакумов М.А., Сандалова Т.О., Нуколова Н.В., Шеин С.А.,Гриненко Н.Ф., Вишвасрао Х., Сокольски-Папков М., Кабанов А.В., Чехонин В.П. 27

VISUALIZATION OF GLIOBLASTOMA MILTIFORME WITH HELP OF MAGNETIC NANOPARTICLES, CONJUGATED WITH MONOCLONAL ANTIBODIES TO VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR BY MRI TECHNIQUE
Abakumov M.A., Sandalova T.O., Nukolova N.V., Shein S.A., Grinenko N.F., Vishvasrao H., Sokolsky-Papkov M., Kabanov A.V., Chekhonin V.P. 28

КОМПЛЕКСНЫЕ ПОДХОДЫ К ПОЛУЧЕНИЮ ЛИПОСОМАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Краснопольский Ю.М., Балабаньян В.Ю., Шоболов Д.Л., Швец В.И.. 29

COMPLEX APPROACHES TO OBTAINING OF LIPOSOME DRUG PREPARATIONS
Yu.M. Krasnopolsky, V.Yu. Balabanyan, D.L. Shobolov, V.I. Shvets. 30

ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЕ ЛИПОСОМЫ С ЛИПОФИЛЬНЫМИ ПРОЛЕКАРСТВАМИ
Водовозова Е.Л., Кузнецова Н.Р., Моисеева Е.В., Бовин Н.В., Степанова Е.В. 30

ANTITUMOR LIPOSOMES LOADED WITH LIPOPHILIC PRODRUGS
Vodovozova E.L., Kuznetsova N.R., Moiseeva E.V., Bovin N.V., Stepanova E.V. 31

РАЗРАБОТКА ПОЛИМЕРНОЙ НАНОКОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ СИЛИБИНА
Заварзина В.В., Арсенкова О.Г., Василенко Е.А., Северин Е.С.. 31

DEVELOPMENT OF POLYMERIC NANOCOMPOSITION BASED ON SILYBIN
Zavarzina V.V., Arsenkova O.G., Vasilenko E.A., Severin E.S.. 32

СЕКЦИЯ «КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ И РЕГЕНЕРАТИВНАЯ МЕДИЦИНА»
SECTION “SELLUAR TECHNOLOGIES AND REGENERATIVE MEDICINE”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КОСТНОГО МОЗГА И ПЛАЦЕНТЫ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ
Гомзяков А.Е., Шахпазян Н.К., Круглова Я.А., Боякова Е.В., Скоробогатова Е.В., Астрелина Т.А., Яковлева М.В. 33

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MESENCHYMAL STEM CELLS FROM BONE MARROW AND PLACENTA FOR CLINICAL USE
Gomzyakov A.E., Shakhpazyan N.K., Kruglova Ya.A., Boayakova E.V., Skorobogatova E.V., Astrelina T.A., Yakovleva M.V.. 34

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ
Шахпазян Н.К., Гомзяков А.Е., Скоробогатова Е.В., Астрелина Т.А., Яковлева М.В. 34

USE OF HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS IN CLINICAL PRACTICE
Shakhpazyan N.K.,Gomzyakov A.E., Skorobogatova E.V., Astrelina T.A., Yakovleva M.V. 35

КАЧЕСТВО И БЕЗОПАСНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАННЫХГЕ МОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУПОВИННОЙ КРОВИ
Кобзева И.В., Карпова Е.Э., Круглова Я.А., Боякова Е.Э.,
Лебедева Л.Л.,Скоробогатова Е.В.,Паина О.В.,Астрелина Т.А., Яковлева М.В. 36

QUALITY AND SAFETY WHEN USING CRYOPRESERVED HEMATOPOIETIC STEM CELLSOF UMBILICAL CORD BLOOD
KobzevI.V., Karpova E.E., Kruglova Ya.A.,Boyakova E.V., Lebedeva L.L.,
Skorobogatova E.V., PainaO.V, Astrelina T.A., Yakovleva M.V. 36

ВЫДЕЛЕНИЕ И КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭКСТРАЭМБРИОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК ИЗ ПЛАЦЕНТЫ И ПУПОЧНОГО КАНАТИКА. ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ ИХ ЭПИТЕЛИОМЕЗЕНХИМНОЙ ПЛАСТИЧНОСТИ
Колокольцова Т.Д., Нановская Т.А., Ахмед М.С., Верниковская Д.И., Патрикеева С.Л.,
Зурина И.М., Горкун А.А., Репин В.С., Сабурина И.Н. 37

ISOLATION AND CULTIVATION OF EXTRA-EMBRYONIC CELLS FROM HUMAN PLACENTA AND UMBILICAL CORD BLOOD. CHARACTERIZATION OF THEIR EPITHELIAL MESENCHYMAL PLASTICITY
Kolokoltsova T.D., Nanovskaya T.N., Ahmed M.S., Vernikovskaya D.I., Patrikeeva S.L.,
Zurina I.M., Gorkun A.A., Repin V.S., Saburina I.N. 38

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К РЕПРОГРАММИРОВАНИЮ ПРОГЕНИТОРНЫХ И СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК
Сабурина И.Н., Репин В.С. 39

NEW APPROACHES TO REPROGRAMMING OF PROGENITOR AND SOMATIC CELLS
Saburina I.N., RepinV.S. 40

ЦИТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ЭФФЕКТА ПРИ ЭКСПОЗИЦИИ РЕПРОТОКСИЧЕСКИХ ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ
Зайцева Н.В., Землянова М.А. 40

CYTOGENETIC MARKERS OF EFFECTS OF EXPOSURE TO REPROTOXIC CHEMICAL FACTROS
Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A. 41

POSITIVE OUTCOME IN CLINICAL PHASE IB TESTING OF LIPOSOMAL RECOMBINANT HUMAN SUPEROXIDE DISMUTASE (APN201) TO PREVENT RADIATION-INDUCED DERMATITIS IN FEMALE BREAST CANCER PATIENTS
Harald Schnidar, Richard Partl, Andreas Neubauer, Eva M. Thurner, Sabine Krenn-Pilko,
Bettina Stranz, Franz Groiss, Manfred Schuster, Hellmut Samonigg, Karin S. Kapp, Hans Loibner42

ИММУНОЛОГИЧЕСКАЯ И ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА УГРОЗЫ ПРЕРЫВАНИЯ БЕРЕМЕННОСТИ У ЖЕНЩИН В УСЛОВИЯХ ЭКСПОЗИЦИИ МЕТИЛИРОВАННЫМИ ФЕНОЛАМИ
Долгих О.В., Харахорина Р.А., Кривцов А.В., Гугович А.М., Дианова Д.Г., Лыхина Т.С., Бубнова О.А. 42

IMMUNOLOGICAL AND GENETIC DIAGNOSIS OF THREATENED ABORTION IN WOMEN EXPOSED TO METHYLATED PHENOLS
Dolgikh O.V., Kharakhorina R.A., Krivtsov A.V., Gugovich A.M., Dianova D.G., Lykhina T.S., Bubnova O.A. 43

БИОМЕДИЦИНСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ В ЧЕШСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ, СОЗДАНИЕ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОЙ ТРАВМАТИЧЕСКОЙ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА, БИОТЕСТ СРО – БИОМЕДИЦИНСКАЯ КОНТРАКТНАЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ
Сурова Ивана 44

CZECH BIOMEDICAL RESEARCH, CREATION OF CHRONIC TRAUMATIC SPINAL CORD INJURY MODEL, BIOTEST S.R.O. – THE BIOMEDICAL CRO
Surova Ivana 45

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К АВТОМАТИЗАЦИИ ВЫРАЩИВАНИЯ КУЛЬТУР АДГЕЗИВНЫХ КЛЕТОК В КРУПНЫХ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИХ И МЕДИЦИНСКИХ ЦЕНТРАХ
Малыгина Т.О. 46

MODERN APPROACH TO THE AUTOMATION OF ADHESIVE CELLS CULTIVATION IN LARGE RESEARCH AND MEDICAL CENTERS
Malygina T.O., Head of Cell Technologies SBU 47

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ПОИСК АССОЦИАЦИИ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ПОВТОРОВ В ПРОМОТОРНОЙ ЧАСТИ ГЕНА ХОЛЕЦИСТИНКИНИНА И МИНИСАТЕЛЛИТНОГО ПОВТОРА В ПРОМОТОРНОЙ ЧАСТИ ГЕНА МОНОАМИНООКСИДАЗЫ А С РАЗВИТИЕМ ПАНИЧЕСКОГО РАССТРОЙСТВА У ЧЕЛОВЕКА
Афончикова Е.В., Климов Е.А. 48

ASSOCIATION OF THE MAOA PROMOTER UVNTR AND CCK PROMOTER STR POLYMORPHISM WITH PANIC DISORDER
E. Afonchikova, E.Klimov 48

ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ЛИПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНИ
Азатян К.А.Алексеев А.В.Зубарева Г.М.Халяпина Я.М. 49

POSSIBLE USE OF LIPOSOMAL DRUG FOR THE TREATMENT OF GALLSTONE DISEASE
Azatyan K.A., Alekseev A.V., Zubareva G.M.. Khalyapina Ya.M. 50

ОСОБЕННОСТИ ПРОЛИФЕРАЦИИ КАРЦИНОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ ПО ЭКСПРЕССИИ HER-2/NEU И С АМПЛИФИКАЦИЕЙ ГЕНА HER-2
Бриллиант А.А., Сазонов С.В., Засадкевич Ю.М. 51

PECULIARITIES OF PROLIFERATION OF BREAST CANCER CARCINOMAS POSITIVE TO HER-2/NEU EXPRESSION WITH HER-2 GENE AMPLIFICATION
Brilliant A.A., Sazonov S.V., Zasadkevich Y.M. 51

ПРЕОДОЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ОПУХОЛЕВЫХ КЛЕТОК ТОЛСТОЙ КИШКИ К TRAIL С ПОМОЩЬЮ МУТАНТНОГО ВАРИАНТА ЦИТОКИНА СЕЛЕКТИВНОГО К РЕЦЕПТОРУ СМЕРТИ DR5
Бычков М.Л., Гаспарян М.Э., Долгих Д.А. 52

OVERCOMING THE RESISTANCE OF COLON TUMOR CELLS TO TRAIL USING A DR5 DEATH RECEPTOR SELECTIVE MUTANT VARIANT OF CYTOKINE
M.L. Bychkov, M.E. Gasparian, D.A. Dolgik 53

АНТИБИОТИК БАТУМИН – СЕЛЕКТИВНЫЙ ИНГИБИТОР БАКТЕРИЙ РОДА *STAPHYLOCOCCUS*
Чуркина Л.Н., Киприанова Е.А., Ванечуте М., Авдеева Л.В., Перунова Н.Б. 53

ANTIBIOTIC BATUMIN – THE SELECTIVE INHIBITOR OF BACTERIA BELONGING TO THE GENUS *STAPHYLOCOCCUS*
Churkina L.N., Vaneechoutte M., Kiprianova E.A., Avdeeva L.V., Perunova N.B. 54

КУРИНЫЕ ЯЙЦА КАК ИСТОЧНИК СПЕЦИФИЧНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ
Егорова Е.А., Ботин Д.Э., Копылов А.Т., Колесанова Е.Ф.. 55

HEN EGGS AS A SOURCE OF SPECIFIC ANTIBODIES FOR BIOMEDICAL RESEARCH
E.A. Egorova, D.E. Botin, A.T. Kopylov, E.F. Kolesanova. 55

РИСКИ ПРИ ОБРАЩЕНИИ ФИТОПРЕПАРАТОВ
Габидова А.Э. 56

THE RISKS OF TREATMENT HERBAL REMEDIES
Gabidova A.E.. 57

МЕТОДИКА ЦИТОМЕТРИЧЕСКОГО ВЫЯВЛЕНИЯ «БОКОВОЙ ПОПУЛЯЦИИ», АССОЦИИРОВАННОЙ С РАКОВЫМИ СТВОЛОВЫМИ КЛЕТКАМИ, С ПРИМЕНЕНИЕМ СИНЕГО ИЛИ ФИОЛЕТОВОГО ЛАЗЕРОВ И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДЛЯ АНАЛИЗА КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА КОЛОРЕКТАЛЬНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ЧЕЛОВЕКА
Гисина А.М., Сарыглар Р.Ю. 59

CYTOMETRIC METHOD FOR REVEALING THE "SIDE POPULATION" ASSOCIATED WITH CANCER STEM CELLS USING BLUE OR VIOLET LASER, AND ITS APPLICATION TO THE ANALYSIS OF CELL SUBPOPULATIONS IN HUMAN COLORECTAL ADENOCARCINOMA SAMPLES HOW ANTIBIOTIC USAGE CAN CHANGE SAFETY OF PROBIOTICS?
Hossein Samadi Kafil, Ashraf Mohebati Mobarez, Mehdi Forouzandeh Moghadam 60

ХАРАКТЕРИСТИКА ИММУНОРЕГУЛЯТОРНЫХ СВОЙСТВ ТОЛЕРОГЕННЫХ ДЕНДРИТНЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА, ПОЛУЧАЕМЫХ ИЗ МОНОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ В ПРИСУТСТВИИ ИЛ-10.
Каралкин П.А., Лупатов А.Ю., Ярыгин К.Н. 60

CHARACTERIZATION OF THE IMMUNOREGULATORY PROPERTIES OF HUMAN TOLEROGENIC DENDRITIC CELLS DERIVED FROM PERIPHERAL BLOOD MONOCYTES IN THE PRESENCE OF IL-10
Karalkin P.A., Lupotov A.Yu., Yarygin K.N. 61

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИГАНД-СВЯЗЫВАЮЩИХ СВОЙСТВ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОНОМЕРА ТРАНСФОРМИРУЮЩЕГО РОСТОВОГО ФАКТОРА БЕТА1 ЧЕЛОВЕКА (TGF-B1) ПОЛУЧЕННОГО В КЛЕТКАХ *ESCHERICHIA COLI*
Ким Я.В., Гаспарян М.Э. 62

STUDY OF LIGAND-BINDING AND BIOLOGICAL ACTIVITIES OF RECOMBINANT HUMAN TGF-B1 MONOMER PRODUCED IN *ESCHERICHIA COLI*
Yana V. Kim, Marine E. Gasparian 63

ИЗУЧЕНИЕ ПРОДУКЦИИ ОКСИДА АЗОТА В ТКАНЯХ СЕРДЦА ЖИВОТНЫХ ПРИ ГИПОКСИИ В ПРИСУТСТВИИ ДОНОРА И ИНГИБИТОРА СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА
Куроптева З.В., Байдер Л.М., Белая О.Л., Крушинский А.Л., Кузенков В.С., Реутов В.П. 63

STUDY OF NITRIC OXIDE PRODUCTION BY HYPOXIA BASED IN ANIMAL HEART TISSUES AT PRESENCE OF DONOR AND INHIBITOR OF NITRIC OXIDE SYNTHESIS
Kuropteva Z.V., Baider L.M., Belaia O.L., L. Krushinskii L.A. V.S. Kuzenkov V.S., Reutov V.P. 64

МОЛЕКУЛЯРНЫЙ МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ТУБЕРКУЛЕЗА, АНАЛИЗА ЕГО ПАТОГЕННОСТИ И ЛЕКАРСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ
Лейнсоо А.Т., Зименков Д.В., Кулагина Е.В., Антонова О.В., Грядунов Д.А. 65

MOLECULAR ASSAY FOR IDENTIFICATION OF TUBERCULOSIS CAUSATIVE AGENT, ANALYSIS OF ITS *PATHOGENICITY AND DRUG SUSCEPTIBILITY TESTING*
A.T. Leinsoo, D.V. Zimenkov, E.V. Kulagina, O.V. Antonova, D.A. Gryadunov 65

РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕСС-ТЕСТА ДЛЯ ОЦЕНКИ КОЛОНИЗАЦИОННОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ВАГИНАЛЬНОГО БИОТОПА
Несчисляев В.А., Столбова М.Г., Раев А.Б. 66

THE DEVELOPMENT OF THE QUICK TEST TO ESTIMATE COLONIZATION RESISTANCE OF A VAGINAL BIOTOPE
Neschislyaev V.A., Stolbova M.G., Raev A.B. 67

ПОЛУЧЕНИЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИ ЦЕННЫХ АНАЛОГОВ АНТИМИКРОБНОГО ПЕПТИДА АРЕНИЦИНА МЕТОДОМ САЙТ-НАПРАВЛЕННОГО МУТАГЕНЕЗА
Пантелеев П.В., Болосов И.А., Морозова Х.А., Баландин С.В., Овчинникова Т.В.. 67

PRODUCTION OF THERAPEUTICALLY VALUABLE ANALOGS OF ANTIMICROBIAL PEPTIDE ARENICIN USING SITE-DIRECTED MUTAGENESIS
Panteleev P.V., Bolosov I.A., Morozova K.A., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V.. 68

ИММОБИЛИЗАЦИЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КРАБА НА ПОЛИСАХАРИДНЫЕ НОСИТЕЛИ
Распопова Е.А., Коротаева А.И., Белов А.А. 69

IMMOBILIZATION OF PROTEOLYTIC COMPLEX FROM HEPATOPANCREAS CRAB IN POLYSACCHARIDES CARRIERS
E.A.Raspopova, A.I.Korotaeva, A.A.Belov 70

РОСТОВЫЕ И ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК (МСК) ЖИРОВОЙ ТКАНИ ПАЦИЕНТОК С ОПУХОЛЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
Самойлович М.П., Пиневич, А.А., Айзенштадт, А.А., Шашкова, О.А., Климович, В.Б. 71

GROWTH AND PHENOTYPIC CHARACTERISTICS OF MESENCHYMAL STROMAL CELLS (MSC) FROM BREAST CANCER PATIENTS
Samoylovich, M.P., Pinevich, A.A., Isenstadt, A.A., Shashkova O.A., Klimovich V.B.. 72

ИНДИКАЦИЯ ГЕНОТОКСИЧЕСКОГО И ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ЭФФЕКТОВ ДЕЙСТВИЯ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ НА ДЕТСКОЕ НАСЕЛЕНИЕ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ АЭРОГЕННОЙ ЭКСПОЗИЦИИ
Землянова М.А., Щербина С.Г.. 72

THE INDICATION OF GENOTOXIC AND CYTOTOXIC EFFECTS OF CHRONIC AEROGENIC EXPOSURE OF CHILDREN TO AROMATIC HYDROCARBONS
Zemlyanova M.A., Shcherbina S.G. 73

ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ ПРИРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ, ОБРАЗУЕМЫХ МУТАНТНЫМИ ШТАММАМИ *AMYCOLATOPSIS ORIENTALIS* SUBSP. *EREMOMYCINI* И *STREPTOALLEFEICHUS CREMEUS* SUBSP. *TOBRAMYCINI*
Тренин А.С., Лапчинская О.А., Погожева В.В., Гладких Е.Г., Бычкова О.П., Федорова Г.Б., Катруха Г.С. 74

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF NATURAL COMPOUNDS PRODUCED BY MUTANT STRAINS OF *AMYCOLATOPSIS ORIENTALIS* SUBSP. *EREMOMYCINI* AND *STREPTOALLEFEICHUS CREMEUS* SUBSP. *TOBRAMYCINI*
Trenin A.S., Lapchinskaya O.A., Pogozheva V.V., Gladkikh E.G., Bychkova O.P., Fedorova G.B., Katrukha G.S. 74

ТКАНЕВАЯ ИНЖЕНЕРИЯ КОСТИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ПУЛЬПЫ ЗУБА И МИНЕРАЛ-ПОЛИМЕРНЫХ СКАФФОЛДОВ, ИЗГОТОВЛЕННЫХ ПО ТЕХНОЛОГИИ СЕЛЕКТИВНОГО ЛАЗЕРНОГО СПЕКАНИЯ
Вахрушев И.В., Ярыгин К.Н. 75

A BONE TISSUE ENGINEERING APPROACHES IN MESENCHYMAL STEM CELLS FROM THE PULP AND NOVEL COMPOSITE SCAFFOLDS PRODUCED BY SURFACE SELECTIVE ELASERSINTERING
Vakhrushev I.V.,Yarigin K.N. 75

МОЛЕКУЛЫ КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ КАК БИОМАРКЕРЫ ПРОГНОЗА РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ
Засадкевич Ю.М., Бриллиант А.А., Сазонов С.В. 78

CELL ADHESION MOLECULES AS PROGNOSTIC BIOMARKERS OF BREAST CANCER
Zasadkevich Y.M., Brilliant A.A., Sazonov S.V. 79

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ НАНОЧАСТИЦ СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗЫ В МОДЕЛИ КОНТУЗИОННОЙ ТРАВМЫ СПИННОГО МОЗГА У КРЫС
Алексашкин А.Д., Морозова А.Ю., Мустафина Т.Б., Чехонин В.П.,Клячко Н.Л., Нуколова Н.В., Кабанов А.В. 79

SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF SUPEROXIDE DISMUTASE NANOPARTICLES USING MODEL OF SPINAL CORD INJURY IN RATS
Aleksashkin A.D., Morozova A.Yu., Mustafina T.B., Chekhonin V.P., Klyachko N.L., Nukolova N.V., Kabanov A.V.. 80

НАНОЧАСТИЦЫ СЕРЕБРА, СТАБИЛИЗИРОВАННЫЕ В-ЦИКЛОДЕКСТРИНАМИ
Асонова Е.И., Сосенкова Л.С., Егорова Е.М.. 81

SILVER NANOPARTICLES STABILIZED BY B-CYCLODEXTRINS
Asonova E.I., Sosenkova L.S., Egorova E.M. 81

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО РАЗДЕЛЕНИЯ СМЕСЕЙ РЕТИНОИДОВ
Беликов Н.Е., Ходонов А.А., Демина О.В., Карпова М.Ю., Яковлева М.А., Фельдман Т.Б., M. Lindström, K. Donner, Островский М.А. 82

DEVELOPMENT OF CHROMATOGRAPHICAL SEPARATION METHOD FOR RETINOID MIXTURES
N.E. Belikov, A.A. Khodonov, O.V. Demina, M.Yu. Karpova, M.A. Yakovleva, T.B. Feldman, M. Lindström, K. Donner, M.A. Ostrovsky 83

ФОТОХРОМНО-МЕЧЕННЫЕ ИНГИБИТОРЫ АГРЕГАЦИИ ТРОМБОЦИТОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА. СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ СПЕКТРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ
Демина О.В., Беликов Н.Е., Лаптев А.В., Лукин А.Ю., Швец В.И., Варфоломеев С.Д., Ходонов А.А. 84

PHOTOCHROMIC LABELLED AGGREGATION INHIBITORS OF HUMAN PLASMA THROMBOCYTES. SYNTHESIS AND STUDY OF SPECTRAL PROPERTIES
O.V. Demina, N.E. Belikov, A.V. Laptev, A.Yu. Lukin, V.I. Shvets, S.D. Varfolomeev, A.A. Khodonov 84

НОВЫЙ ТИП ПОЛИАМИДНЫХ МИМЕТИКОВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ С ЗАДАННЫМИ СВОЙСТВАМИ: ПОДХОДЫ К КОНСТРУИРОВАНИЮ И ИЗУЧЕНИЮ СВОЙСТВ
Деженков А.В., Ширяева М.В., Кириллова Ю.Г. 85

NEW TYPE OF POLYAMIDE NUCLEIC ACIDS MIMICS WITH DETERMINED FEATURES: DESIGN AND PROPERTIES INVESTIGATION
Dezhenkov A.V., Shiryaeva M.V., Kirillova Yu.G. 86

СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ ДИНУКЛЕОЗИДСОДЕРЖАЩИХ ЛИПОФИЛЬНЫХ КОНЪЮГАТОВ 3’-АЗИДО-3’-ДЕЗОКСИТИМИДИНА И 2’,3’-ДИДЕГИДРО-3’-ДЕЗОКСИТИМИДИНА НА ОСНОВЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПОЛИОЛОВ
Дьякова Л.Н., Шастина Н.С. 86

SYNTHESIS AND PROPERTIES STUDING OF LIPOPHILIC DINUCLEOSIDE CONJUGATES OF 3’-AZIDO-3’-DEOXYTHYMIDINE AND 2’,3’-DIDEHYDRO-3’-DEOXYTHYMIDINE BASED ON MODIFICATED POLYOLS
D’yakova L.N., Shastina N.S. 87

ПОЛУЧЕНИЕ ГЕЛЕОБРАЗНЫХ НАНОЧАСТИЦ «ЯДРО-ОБОЛОЧКА» НА ОСНОВЕ НИЗКОАЦЕТИЛИРОВАННОГО ХИТОЗАНА И ГЛОБУЛЯРНЫХ БЕЛКОВ
Феоктистова Н.А., Мартиросова Е.И., Мрачковская Т.А., Плащина И.Г. 88

CREATION OF GEL LIKE “CORE-SHELL” NANOPARTICLES ON THE BASE OF LOW ACETYLATED CHITOSAN AND SOME GLOBULAR PROTEINS
Feoktistova N.A., Martirosova E.I., Mrachkovskaya T.A., Plashchina I.G. 88

ГИДРОФИЛЬНЫЕ КВАНТОВЫЕ ТОЧКИ: СИНТЕЗ И ПРИМЕНЕНИЕ В КАЧЕСТВЕ БИОМЕТОК
Гофтман В.В., Сперанская Е.С. 89

WATER SOLUBLE QUANTUM DOTS: PREPARATION AND USAGE AS A BIOLABELS
Goftman V.V., Speranskaya E.S. 90

СПОСОБ ИММОБИЛИЗАЦИИ АНТИТЕЛ НА ПОВЕРХНОСТИ МАГНЕТОСОМ
Груздев Д.С., Дзюба М.В. 91

METHOD OF IMMOBILISATION OF ANTIBODIES ON THE SURFACE OF MAGNETOSOMES
Grouzdev D.S.,Dziuba M.V. 92

НОВЫЙ КЛАСС ИНЪЕКЦИОННЫХ ВНУТРИСУСТАВНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ВИТАМИНАМИ И АМИНОКИСЛОТАМИ МЕТОДОМ ТВЕРДОФАЗНОГО РЕАКЦИОННОГО СМЕШЕНИЯ
Иванов П.Л., Успенский С.А., Селянин М.А., Хабаров В.Н. 92

A NEW CLASS OF INTRA-ARTICULAR INJECTIONS BASED ON HYALURONIC ACID MODIFIED WITH VITAMINS AND AMINO ACIDS OBTAINED USING SOLID-STATE REACTIVE BLENDING.
Ivanov P.L., Uspenskii S.A., Selyanin M.A., Khabarov V.N.. 93

АДРЕСНЫЕ МОДУЛЬНЫЕ СИСТЕМЫ ДОСТАВКИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ В ГЕПАТОЦИТЫ
Иванова Е.А., Маслов М.А., Чупин В.В., Морозова Н.Г. 94

TARGETED MODULAR LIPID TRANSPORT SYSTEMS FOR NUCLEIC ACID DELIVERY INTO HEPATOCYTES
Ivanova E.A.1, Maslov M.A., Chupin V.V., Morozova N.G. 94

САЙТЫ СВЯЗЫВАНИЯ MIRNA С MRNA ГЕНОВ ОНКОСУПРЕССОРОВ
Берилло О.А., Байдильдинова Г.К., Молдагалиева А.Г.и Иващенко А.Т. 95

MIRNA BINDING SITES IN MRNAS OF TUMOUR SUPPRESSOR GENES
Berillo O.A., Baidildinova G.K., Moldagalieva A.G.and Ivashchenko A.T. 95

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ МИЦЕЛЛЯРНЫХ СИСТЕМ ДОСТАВКИ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ ЛИПОТЕТРАПЕПТИДОВ
Колоскова О.О., Буданова У.А., Себякин Ю.Л. 96

STUDY OF THE PROPERTIES OF MICELLAR GENE DELIVERY SYSTEMS BASED ON LIPOTETRAPEPTIDES
Koloskova O.O., Budanova U.A., Sebyakin Yu.L. 97

ПОЛУЧЕНИЕ НАНОЧАСТИЦ ИЗ СОПОЛИМЕРА МОЛОЧНОЙ И ГЛИКОЛЕВОЙ КИСЛОТ И ИССЛЕДОВАНИЕ ДЕГРАДАЦИИ СИСТЕМЫ В СРЕДАХ БЛИЗКИХ К ФИЗИОЛОГИЧЕСКИМ
Кононова Е.А., Сорокоумова Г.М. 97

DEVELOPMENT OF POLY-(D,L-LACTIC-CO-GLYCOLIC) ACID NANOPARTICLES AND EVALUATION OF THEIR DEGRADATION IN CLOSE-TO-PHYSIOLOGICAL ENVIRONMENT
Kononova E.A., Sorokoumova G.M.. 98

ПРИМЕНЕНИЕ КЛАСТЕРНЫХ НЕОГЛИКОКОНЪЮГАТОВ НА ОСНОВЕ D-ГЛЮКОЗЫ В СОСТАВЕ ЛИПОСОМ ДЛЯ ДОСТАВКИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ
Курочкина Н.А., Стрижевская Д.А., Щелик И.С., Шишина А.К., Себякин Ю.Л. 99

APPLICATION OF CLUSTER NEOGLYCOCONJUGATES, BASED ON D-GLUCOSE, IN LIPOSOMES FOR DELIVERY OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS
Kurochkina N.A., Strizhevskaya D.A., Shchelik I.S., Shishina A.K., Sebyakin Y.L. 99

ЛИПОСОМАЛЬНЫЕ НАНОКОНТЕЙНЕРЫ ДЛЯ ПРОТИВОРАКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ СОЛЕЙ ПЛАТИНЫ
Кузнецов И.И., Абакумова Т.О., Власова К.Ю., Кабанов А.В., Нуколова Н.В., Чехонин В.П. 100

LIPOSOMAL NANOCONTAINERS FOR ANTICANCER DRUGS BASED ON PLATINUM SALT
Kuznetsov I.I., Abakumova T.O., Vlasova K.Y., Kabanov A.V., Nukolova N.V., Chekhonin V.P. .101

ЛИПОСОМАЛЬНАЯ ФОРМА ПРИРОДНЫХ ЛИПИДОВ КАК ЭФФЕКТИВНАЯ НАНОСИСТЕМА АДРЕСНОЙ ДОСТАВКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Ламажапова Г.П., Жамсаранова С.Д. 101

LIPOSOMAL FORM OF NATURAL LIPIDS AS EFFECTIVE NANOSYSTEM OF TARGETED DRUG DELIVERY
Lamazhapova G.P., Zhamsaranova S.D. 102

МЕХАНИЗМ БАКТЕРИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛИПОСОМАЛЬНОГО КАРДИОЛИПИНА НА КЛЕТКИ *ESCHERICHIA COLI*
Микулович Ю.Л., Сорокоумова Г.М., Селищева А.А., Швец В.И. 103

THE MECHANISM OF BACTERICIDAL ACTION OF LIPOSOMAL CARDIOLIPIN ON *ESCHERICHIA COLI* CELLS
Mikulovich J.L., Sorokoumova G.M., Selishcheva A.A., Shvets V.I. 104

НАНОЧАСТИЦЫТРИТЕРПЕНОИДОВ, СЕНСИБИЛИЗИРОВАННЫЕ АМФИФИЛЬНЫМИ *МЕЗО*-АРИЛПОРФИРИНАМИ, КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АГЕНТЫ ДЛЯ ФДТ
Нгуен Х.К., Жданова К.А. 104

TRITERPENOIDNANOPARTICLESSENSITIZEDOFAMPHIPHILIC*MESO*-ARYLPORPHYRINSAS POTENTIAL AGENTS FOR PDT
Nguyen H.Q., Zhdanova K.A. 105

ПРИМЕНЕНИЕ МАГНИТНЫХ НАНОЧАСТИЦ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ИММУНОХИМИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ НА АФЛАТОКСИН B1
Петракова А.В., Урусов А.Е., Возняк М.В., Жердев А.В., Дзантиев Б.Б. 106

THE USE OF MAGNETIC NANOPARTICLES FOR THE DEVELOPMENT OF IMMUNOCHEMICAL TEST SYSTEM FOR AFLATOXIN B1
Petrakova A.V., Urusov A.E., Voznyak M.V., Zherdev A.V., Dzantiev B.B. 107

ГЕНОТОКСИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ПОЛОВЫХ КЛЕТКАХ МЫШЕЙ
Полякова Т.В., Орджоникидзе К.Г., Егорова Е.М. 107

GENOTOXIC EFFECTS OF SILVER NANOPARTICLES ON THE GERM CELLS OF MICE
Polyakova T.V., Ordzhonikidze K.G., Egorova E.M. 108

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ НА МИКРОЧИПАХ НА ОСНОВЕ ДЕТЕКЦИИ ЕДИНИЧНЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ ДНК МЕТОДОМ СКАНИРУЮЩЕЙ ЭЛЕКТРОННОЙ МИКРОСКОПИИ
Преснова Г.В., Рубцова М.Ю., Преснов Д.Е., Григоренко В.Г., Игнатенко О.В., Егоров А.М. 108

IDENTIFICATION OF GENES ON THE MICROCHIPS WITH A DETECTION BASED ON SINGLE DNA INTERACTIONS USING SCANNING ELECTRON MICROSCOPY
Presnova G.V., Rubtsova M.Yu., Presnov D.E., Grigorenko V.G., Ignatenko O.V., Egorov A.M. 109

АМИНО-ФУНКЦИОНАЛИЗОВАННЫЙ ФТОРУГЛЕРОДНЫЙ ГЕМОСОРБЕНТ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ НОСИТЕЛЬ ДЛЯ ИММОБИЛИЗАЦИИ БИОЛИГАНДОВ БЕЛКОВОЙ ПРИРОДЫ
Пьянова Л.Г., Лихолобов В.А., Даниленко А.М., Седанова А.В. 110

РАЗРАБОТКА СХЕМЫ ПОЛУЧЕНИЯ НОВЫХ ГИДРОФОБНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ L-КАРНИТИНА И АЦЕТИЛ-L-КАРНИТИНА
Серегина А.В., Себякин Ю.Л. 110

DEVELOPMENT OF LIPOSOMAL AND EMULSION DRUG DELIVERY SYSTEMS BASED ON HYDROPHOBIC DERIVATIVES OF L-CARNITINE AND ACETYL-L-CARNITINE
Seregina A.V., Sebyakin Yu.L. 111

МЕТОД БЫСТРОЙ И ВЫСОКОЧУВСТВИТЕЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ ОПАСНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ ПО МОЛЕКУЛЯРНЫМ БИОМАРКЕРАМ
Шляпников Ю.М., Морозов В.Н. 111

RAPID ULTRA-SENSITIVE ASSAY OF BACTERIAL TOXINS FOR DIAGNOSTICS OF HAZARDOUS PATHOGENS
Y.M. Shlyapnikov, V. N Morozov 112

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИМЕНЕНИЯ ЛИПОСОМ ИЗ ФОСФОЛИПИДОВ ПОДСОЛНЕЧНИКА ДЛЯ ПОДАВЛЕНИЯ СВОБОДНЫХ РАДИКАЛОВ
Шульга С.М., Глух И.С., Данилов В.И. 113

MULTISCALE MOLECULAR SIMULATION AND EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF SUNFLOWER PHOSPHOLIPIDS LIPOSOMES USING FOR SCAVENGING FREE RADICALS
Shulga S., Glukh I., Danilov V. 113

ЦИТОТОКСИЧНОСТЬ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА, СТАБИЛИЗИРОВАННЫХ КРАХМАЛОМ
Сосенкова Л.С., Суетина И.А., Егорова Е.М., Подчерняева Р.Я. 114

CYTOTOXICITY OF SILVER NANOPARTICLES STABILIZED BY STARCH
Sosenkova L.S., Suetina I.A., Egorova E.M., Podchernyaeva R.Ya. 114

СИНТЕЗ АСИММЕТРИЧНЫХ ДИЭФИРОВ L-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ ДЛЯ МОДЕЛИРОВАНИЯ ГИДРОФОБНОГО БЛОКА КАТИОННЫХ ДИМЕРНЫХ АМФИФИЛОВ
Сумина А.М., Сарычев Г.А., Колоскова О.О., Себякин Ю.Л. 115

SYNTHESIS OF ASYMMETRIC DIESTERS OF L-GLUTAMIC ACID FOR MODELLING THE HYDROPHOBIC BLOCK OF CATIONIC DIMERIC AMPHIPHILES
Sumina A.M., Sarychev G.A., Koloskova O.O., Sebyakin Y.L.. 116

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРАТЕГИЯ СИНТЕЗА КОМПЛЕКСА ГИАЛУРОНОВОЙ КИСЛОТЫ И ТЕТРАБОРАТА НАТРИЯ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ МЕТОДОМ БОР-НЕЙТРОНОЗАХВАТНОЙ ТЕРАПИИ
Успенский С.А.,Иванов П.Л., Корякин С.Н., Селянин М.А., Ульяненко С.Е., Хабаров В.Н., Черкаев. Г.В., Зеленецкий А.Н. 117

A NOVEL SUPRAMOLECULAR HYALURONAN/POLYBORATE SYSTEMS FOR TUMOUR TREATMENT OF BORON NEUTRON CAPTURE THERAPIES
Uspenskii S.A., Ivanov P.L., KoryakinS.N., SelyaninM.A., UlyanenkoS.E., KhabarovV.N., CherkaevG.V., ZelenetskiiA.N. 118

МАГНИТОУПРАВЛЯЕМЫ ФЕРМЕНТ-МАГНЕТИТ НАНОКОМПЛЕКСЫ
Власова К.Ю., Абакумов М.А., Головин Ю.И., Сокольски М., Вишвасрао Х. Клячко Н.Л., Кабанов А.В. 118

MAGNETIC REGULATED ENZYME-MAGNETITE NANOCOMPLEXES
Vlasova K.Y., Abakumov M.A., Golovin Yu.I., Sokolsky M., Vishwasrao H., Klyachko N.L., Kabanov A.V. 119

СТРУКТУРНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ЛИЗОЦИМА С ДЕКСТРАН СУЛЬФАТОМ В ВОДЕ
Журавлева И.Л., Антонов Ю.А. 120

STRUCTURAL INVESTIGATION OF THE INTERACTION BETWEEN LYSOZYME AND DEXTRAN SULPHATE IN WATER
Zhuravleva I.L., Antonov Y.A. 121

ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ВОДНОЙ СУСПЕНЗИИ НАНОДИСПЕРСНОГО ДИОКСИДА КРЕМНИЯ, СИНТЕЗИРОВАННОГО МЕТОДОМ ЖИДКОКРИСТАЛИЧЕСКОГО ТЕМПЛАТИРОВАНИЯ
Зайцева Н.В., Землянова М.А., Звездин В.Н., Саенко Е.В. 122

TOXICOLOGICAL AND HYGIENIC SAFETY ASSESSMENT OF THE AQUEOUS SUSPENSION OF NANO-DISPERSED SILICON DIOXIDE, SYNTHESIZED USING LIQUID-CRYSTAL TEMPLATING
Zaitseva N.V., Zemlyanova M.A., Zvezdin V.N., Sayenko Ye.V. 122

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

АНАЛИТИЧЕСКИЕ НАНОФИЛЬТРЫ ИЗ ВОДОРАСТВОРИМЫХ ПОЛИМЕРОВ
Михеев А.Ю., Морозов В.Н.. 123

ANALYTICAL FILTERS FROM WATER-SOLUBLE POLYMER
Mikheev A.Y., Morozov V.N. 123

ПРИМЕНЕНИЕ СУПЕР- И КВАНТОВЫХ КОМПЬЮТЕРОВ, КРИПТОГРАФИЧЕСКИХ И СТЕГАНОГРАФИЧЕСКИХ СИСТЕМ ДЛЯ ПРОЕКТИРОВАНИЯ НАНОТЕХНОЛОГИЙ И РАЗРАБОТКИ НАНОМАТЕРИАЛОВ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ КОМПЛЕКСОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ЭНЕРГЕТИКЕ, МЕДИЦИНЕ И ЭКОЛОГИИ
Раткин Л.С. 124

SUPERCOMPUTERS AND QUANTUM COMPUTERS, CRYPTOGRAPHIC AND STEGANOGRAPHIC SYSTEMS FOR PROJECTING OF NANOTECHNOLOGIES AND PRODUCING OF NANOMATERIALS FOR BIOTECHNOLOGICAL COMPLEXES FOR ENERGY, MEDICAL AND ECOLOGICAL APPLICATIONS
Rathkeen L.S. 124

ФОСФОЛИПИДНО-ОЛЕАТНЫЕ НАНОЧАСТИЦЫ ДЛЯ ТРАНСПОРТА РИФАМПИЦИНА
Санжаков М.А., Торховская Т.И., Тихонова Е.Г., Прозоровский В.Н., Ипатова О.М. 125

PHOSPHOLIPID-OLEATE NANOPARTICLES FOR RIFAMPICIN TRANSPORT
Sanzhakov M.A., Torkhovskaya T.I., Tikhonova E.G., Prozorovskiy V.N., Ipatova O.M. 126

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ НОВОГО ПРЕПАРАТА ГЕМАКС
Джафаров М.Х., Заварзин И.В., Мирзаев М.Н., Воронин Е.С., Девришов Д.А., Мельницкая Т.И. 126

TECHNOLOGICAL ASPECTS OF THE SYNTHESIS OF THE NOVEL DRUG GEMAX
Dzhafarov M. Kh., Zavarzin I.V., Mirzaev M.N., Devrishov D.A., Melnitskay T.I.. 127

ПОЛИМЕРНЫЕ НАНОКОНСТРУКЦИИ АНТИГЕНОВ ВИРУСА ГРИППА
Зайцева Е.С., Титова Т.Г., Петровский С.В., Москвичев Б.В.. 128

POLYMER NANOCONSTRUCTS ANTIGENS OF INFLUENZA VIRUS
Zaitseva T.S., Titova T.G., Petrovsky S.V., Moskvichev B.V. 128

ВЛИЯНИЕ МИНОРНЫХ САХАРОВ НА СИНТЕЗ И СТРУКТУРУ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ
Корнеева О.С., Черемушкина И.В.. 129

THE INFLUENCE OF THE MINOR SUGARS ON THE SYNTHESIS AND STRUCTURE OF IMMUNOGLOBULINS
Korneeva O.S., Cheremushkina I.V. 130

ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ КУЛЬТУР КЛЕТОК MDCK, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ РАЗНЫХ КОЛЕКЦИЙ, К ВИРУСУ ГРИППА A/17/КАЛИФОРНИЯ/2009/38(H1N1)
Герасименко Н.Б.,Радаева И.Ф., Нечаева Е.А., Руденко Л.Г. 130

SENSITIVITY STUDIES OF CELL CULTURES OF MDCK, DERIVED FROM VARIOUS COLLECTION, FLY VIRUS A/17/KALIFORNIYA/2009/38 (H1N1)
Gerasimenko N.B., Radaeva I.F., Nechaeva E.A., Rudenko L.G. 131

ВЫЯВЛЕНИЕ ЦИТОТОКСИЧЕСКОГО ВЛИЯНИЯ АУТОЛОГИЧНЫХ ОРГАННЫХ ЭКСТРАКТОВ НА РОСТ КУЛЬТУРЫ МЕЗЕНХИМНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК КРЫСЫ (МСК КМ КРЫСЫ)
Косовский Г.Ю., Горбунова Е.А., Колмычкова К.И., Спиридонов А.В.,Футочкина В.А. 132

IDENTIFICATION OF CYTOTOXIC EFFECTS OF THE AUTOLOGOUS ORGAN EXTRACTS ON RAT MESENCHYMAL STEM CELLS (RAT BM-MSC) GROWTH IN CULTURE
Kosovsky G.Y., Gorbunova E.A., Kolmychkova K.I., Spiridonov A.V., Futochkina V.A 132

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА *BDNF* У ЖИТЕЛЕЙ МОСКВЫ
Кондратьева Н.С., Кокаева З.Г., Кочеткова Т.О., Афончикова Е.В., Климов Е.А. 133

BDNF GENE POLYMORPHISM AMONG OF MOSCOW CITIZENS
Kondratieva N.S., Kokaeva Z.G., Kochetkova T.O., Afonchikova E.V., Klimov E.A.. 133

КОМПЛЕКСНЫЙ ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ «БИФИЛАКТ-БИЛС®» НА ОСНОВЕ ЛАКТО- И БИФИДОБАКТЕРИЙ
Несчисляев В.А., Мокин П.А., Столбова М.Г., Белова И.В., Арчакова Е.Г.. 134

THE COMPLEX PROBIOTIC PREPARATION «BIFILACT-BILS®» ON THE BASE OF LACTO- AND BIFIDOBACTERIA
Neschislyaev V.A., Mokin P.A., Stolbova M.G., Belova I.V., Archakova E.G. 135

КОМПЛЕКСНЫЙ ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ПРЕПАРАТ «БИФИЛАКТ-БИЛС®» НА ОСНОВЕ ЛАКТО- И БИФИДОБАКТЕРИЙ
Несчисляев В.А., Мокин П.А., Столбова М.Г., Белова И.В., Арчакова Е.Г.. 135

THE COMPLEX PROBIOTIC PREPARATION «BIFILACT-BILS®» ON THE BASE OF LACTO- AND BIFIDOBACTERIA
Neschislyaev V.A., Mokin P.A., Stolbova M.G., Belova I.V., Archakova E.G. 136

ПЕРСПЕКТИВЫ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ ПЕПТИДНЫХ АНТИБИОТИКОВ
Овчинникова Т.В. 136

THE POTENTIAL OF NATURAL PEPTIDE ANTIBIOTICS AS NEW DRUGS
Ovchinnikova T.V. 137

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К РЕПРОГРАММИРОВАНИЮ ПРОГЕНИТОРНЫХ И СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК
Сабурина И.Н., Репин В.С. 138

NEW APPROACHES TO REPROGRAMMING OF PROGENITOR AND SOMATIC CELLS
Saburina I.N., RepinV.S. 138

АНАЛИЗ СОСТАВА ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА НУКЛЕОТИДОВ – ИНДУКТОРА ГЕМОПОЭЗА
Шабанова М.Е., Баурина М.М., Тихонов Ю.В. 139

ANALYSIS OF COMPOSITION OF A NUCLEOTIDE DRUG, THE INDUCTOR OF HEMOPOIESIS
Shabanova M.E., Baurina M.M., Tihonov Ju.V. 141

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ КОММЕРЧЕСКИХ РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ТРАНСФЕКЦИИ РАЗЛИЧНЫХ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ
Косовский Г.Ю., Горбунова Е.А., Колмычкова К.И., Спиридонов А.В., Футочкина В.А. 142

COMPARISON OF EFFECTIVENESS OF COMMERCIAL TRANSFECTION REAGENTS TESTED ON DIFFERENT CELL LINES
Kosovsky G.Yu., Gorbunova E.A., Kolmychkova K.I., Spiridonow A.V., Futochkina V.A.. 142

ГЛУТАТИОН (GSH) – РЕГУЛЯТОР ОБРАЗОВАНИЯ БИОПЛЕНОК БАКТЕРИАЛЬНЫМИ КЛЕТКАМИ?
Стрельцова Д.А., Васильева С.В., Романова Ю.М., Алексеева Н.В. 143

THE QUESTION WORTH ASKING: COULD GLUTATHIONE (GSH) BE A REGULATOR OF BACTERIAL BIOFILM FORMATION?
Streltsova D.A., Vasilieva S.V., Romanova Y.M., Alekseeva N.V. 144

КЛЕТОЧНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРИ ДОКЛИНИЧЕСКИХ ИСПЫТАНИЯХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПИЩЕВЫХ ИНГРЕДИЕНТОВ
Нгуен Тхи Минь Кхань, Машенцева Н.Г., Колотвина С.В., Ахромова Е.С. 145

CELL TECHNOLOGIES IN PRE-CLINICAL TESTS OF FUNCTIONAL FOOD INGREDIENTS
Nguyen Thi Minh Khanh, Mashentseva N.G., Kolotvina S.V., Ahromova E.S. 145

КОНТРОЛЬ ВИРУСОВ ГЕРПЕСА ЧЕЛОВЕКА В МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ ДЛЯ КЛИНИЧЕСКОГО ПРИМЕНЕНИЯ
Шахпазян Н.К., Гомзяков А.Е., Кобзева И.В., Карпова Е.Э.,Скоробогатова Е.В., Астрелина Т.А., Яковлева М.В. 146

CONTROL OF HERPESVIRUS IN HUMAN MESENCHYMAL STEM CELLS FOR CLINICAL USE
Shakhpazyan N.K.,Gomzyakov A.E., Kobzeva I.B., Karpova E.E., Skorobogatova E.V., Astrelina T.A., Yakovleva M.V.. 147

СОВМЕСТНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЛИТИЧЕСКОГО ФЕРМЕНТА БАКТЕРИОФАГА FMV С ОКТЕНИДИНОМ В КАЧЕСТВЕ СРЕДСТВА ПРОТИВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*
Свиридов Б.В., Орлова Н.В. 147

JOINT APPLICATION OF BACTERIOPHAGE FMV LYTIC ENZYME AND OCTENIDINE AS AN ANTIPSEUDOMONAL
Sviridov B.V., Orlova N.V. 148

МЕТОД ОЧИСТКИ ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОГО ИНТЕРФЕРОНА БЕТА-1В ОТ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЭНДОТОКСИНОВ
Журавко А.С., Кононова Н.В., Бобрускин А.И., Швец В.И. 149

METHOD OF PURIFICATION RECOMBINANT INTERFERON BETA-1B FROM BACTERIAL ENDOTOXINS
Zhuravko A.S., Kononova N.V., Bobruskin A.I., Shvets V.I. 150

ЛАТЕРАЛЬНЫЙ ПРОТОЧНЫЙ ИММУНОАНАЛИЗ ТРОПОНИНА I ДЛЯ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ ОСТРОГО ИНФАРКТА МИОКАРДА
Яковлева Е.А., Андреева И.П., Григоренко В.Г., Осипов А.П., Егоров А.М. 150

LATERAL FLOW IMMUNOASSAY OF HUMAN TROPONIN-I
Yakovleva E.A., Andreeva I.P., Grigorenko V.G., Egorov A.M., Osipov A.P. 151

КРУГЛЫЙ СТОЛ «БИОМЕДИЦИНСКАЯ ТЕХНИКА»
SEMINAR "BIOTECHNOLOGY AND MEDICAL EQUIPMENT"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ОСНОВЫ ЯДЕРНО-ФИЗИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ СОЧЕТАННОЙ ПРОТОННОЙ И ФОТОННОЙ РАДИОТЕРАПИИ
Акулиничев С.В., Асеев В.Н., Васильев В.Н., Гаврилов Ю.К., Держиев В.И., Коконцев Д.А., Лазебник Д.Б., Скоркин В.М. 153

NUCLEAR AND PHYSICAL GROUNDS OF THE COMBINED PROTON AND PHOTON RADIOTHERAPY
S.V.Akulinichev, V.N.Aseev, V.N.Vasiliev, Yu.K.Gavrilov, V.I.Derzhiev, D.A.Kokoncev, D.B.Lazebnik, V.M.Skorkin 154

ПРИБОРЫ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ ОФТАЛЬМОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Гридин В.Н., Труфанов М.И. 155

DEVICES FOR THE EARLY DIAGNOSIS OF EYE DISEASES
Gridin V.N., Truphanov M.I. 155

СТАТУС И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ РАДИАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ В ОНКОЛОГИИ
Хмелев А.В. 156

STATUS AND APPLICATION PROSPECTS OF THE RADIATION TECHNOLOGIES FOR DIAGNOSIS IN ONCOLOGY
A.V. Khmelev 157

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭКСПЛУАТАЦИИ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ В СЛУЖБЕ КРОВИ
Лазаренко М.И., Костин А.И., Морозова Н.В. 157

TECHNOLOGICAL ASPECTS OF THE OPERATION OF MEDICAL TECHNOLOGY IN BLOOD TRANSFUSION SERVICES
Lazarenko M.I., Kostin A.I., Morozova N.B. 158

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ РАДИОЧАСТОТНЫХ УСТРОЙСТВ ДЛЯ РАЗРУШЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ
Макаров В.Н. 159

"FUTURE OF INSTALLATIONS FOR RADIOFREQUENCY ABLATION OF BIOLOGICAL TISSUES "
V.N. Makarov 159

ОБРАБОТКА ПОВЕРХНОСТИ ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ В ЭЛЕКТРОЛИТАХ-СУСПЕНЗИЯХ
Крит Б.Л., Морозова Н.В. 160

SURFACE TREATMENT OF THE WORKPIECES FOR MEDICAL APPOINTMENTS IN ELECTROLYTES-SUSPENSIONS
Krit B.L., Morozova N.V. 161

КОМПЛЕКСНЫЙ ПОДХОД К ПРИМЕНЕНИЮ ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМ РЕПРОДУКЦИИ КЛЕТОК, ТКАНЕЙ И БИОПРОТЕЗИРОВАНИЯ
Розанов В.В., Быков В.А., Матвейчук И.В., Денисов-Никольский Ю.И., Пантелеев В.И., Шутеев С.А.. 161

A COMPREHENSIVE APPROACH TO THE USE OF INNOVATIVE TECHNOLOGIES TO ADDRESS REPRODUCTIVE CELLS, TISSUES AND ORTHOTIC
Rozanov V.V., Bykov V.A., Matveichuk I.V., Denisov-Nikolsky Y.I., Panteleev V.I., Shuteev S.A.162

РАЗРАБОТКА И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНЕРАТОРОВ ОЗОНА ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРИМЕНЕНИЙ
Пантелеев В.И., Розанов В.В., Матвейчук И.В.. 163

THE DEVELOPMENT AND USE OF OZONE GENERATORS FOR BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS
Panteleev V.I., Rozanov V.V., Matveichuk I.V.. 163

ЭЛЕКТРОКАРДИОГРАФИЯ СВЕРХВЫСОКОГО РАЗРЕШЕНИЯ
Зайченко К. В. 164

ULTRA-HIGH RESOLUTION ELECTROCARDIOGRAPHY
Zaichenko K.V. 165

СЕКЦИЯ «ИММУННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ»
SECTION "IMMUNE BIOTECHNOLOGY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА
БойкоН. В. 166

MICROBIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL MARKERS IN DIAGNOSTIC OF HUMAN METABOLIC DISEASES
NadiyaV. Boyko 167

ПЕРСПЕКТИВЫ ИММУНОТЕРАПИИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ С ПОМОЩЬЮ АНТИТЕЛ ПРОТИВ TN АНТИГЕНА
Филатов А.В., Мазуров Д.В. 168

PERSPECTIVES OF IMMUNOTHERAPY OF ONCOLOGICAL DESEASES USING THE HE MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST TN ANRIGEN
Filatov A.V., Mazurov D.V. 168

СОЗДАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ ГНОЙНО-СЕПТИЧЕСКИХ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗЫВАЕМЫХ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫМИ БАКТЕРИЯМИ
Михайлова Н.А., Грубер И.М., Курбатова Е.А., Егорова Н.Б., Ахматова Н.К., Семенова И.Б., Воробьев Д.С., Черкасова Л.С., Асташкина Е.А., Тарасова О.Е., Злыгостев С.А., Зверев В.В. 169

THE DEVELOPMENT OF MEDICINE FOR PROPHYLAXIS AND THERAPY PURULENT-SEPTIC NOSOCOMIAL INFECTIONS CAUSED BY OPPORTUNISTIC MICROORGANISMS
Mikhailova N.A., Gruber I.M., Kurbatova E.A., Egorova N.B., Akhmatova N.K., Semenova I.B., Vorobiev D.S., Cherkasova L.S., Astashkina E.A., Tarasova O.E., Zlygostev S.A., Zverev V.V. 170

СОЗДАНИЕ ГУМАНИЗИРОВАННОГО МОНОКЛОНАЛЬНОГО АНТИТЕЛА ПРОТИВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ Е ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ
Петров А.В., Ищенко А.М., Козлов А.П., Селезнева Л.А., Симбирцев А.С. 171

DEVELOPMENT OF ANTI-HUMAN IMMUNOGLOBULIN E HUMANIZED MONOCLONAL ANTIBODY FOR TREATMENT OF ALLERGIC DISEASES
Petrov A.V., Ischenko A.M., Kozlov A.P., Selezneva L.A., Simbirtsev A.S. 171

СОЗДАНИЕ ИММУНОГЕННЫХ КОМПОЗИЦИЙ, СОСТОЯЩИХ ИЗ ИСКУССТВЕННЫХ СФЕРИЧЕСКИХ ЧАСТИЦ, ПОЛУЧЕННЫХ НА ОСНОВЕ ВИРУСА ТАБАЧНОЙ МОЗАИКИ, И ИКОСАЭДРИЧЕСКИХ ВИРИОНОВ В КАЧЕСТВЕ АНТИГЕНОВ
Трифонова Е.А., Никитин Н.А., Гмыль А.П., Лазарева Е.А., Карпова О.В., Атабеков И.Г. 172

IMMUNOGENIC COMPOSITIONS ASSEMBLED FROM ARTIFICIAL SPHERICAL PARTICLES GENERATED BY TOBACCO MOSAIC VIRUS AND ENTIRE ISOMETRIC VIRIONS AS FOREIGN ANTIGENS
Trifonova E.A., Nikitin N.A., Gmyl A.P., Lazareva E.A., Karpova O.V., Atabekov J.G. 173

СОЗДАНИЕ СОВРЕМЕННОЙ ВИРУСБЕЗОПАСНОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ПРЕПАРАТОВ ИММУНОГЛОБУЛИНА G (IGG) ЧЕЛОВЕКА ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ
Зубкова Н.В., Анастасиев В.В., Казьянин А.В., Николаева А.М., Игнатьев Г.М., Лобастова А.К. 173

DEVELOPMENT OF THE MODERN VIRUS SAFETY TECHNOLOGIES OF INTRAVENOUS HUMAN IMMUNOGLOBULIN PREPARATIONS (IGG)
N.V.Zubkova, V.V.Anastasiev, A.V.Kazyanin, A.M.Nikolaeva, G.M.Ignatyev, A.K. Lobastova . .174

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ВЫДЕЛЕНИЕ И СТРУКТУРНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ АЛЛЕРГЕНОВ КЛАССА LTP
Богданов И.В., Финкина Е.И., Стукачева Е.А., Овчинникова Т.В. 175

ISOLATION AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF NOVEL LTP-RELATED PLANT ALLERGENS
Bogdanov I.V., Finkina E.I., Stukacheva E.A., Ovchinnikova T.V. 176

ПОЛУЧЕНИЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К БЕЛКУ НУКЛЕОКАПСИДА ВИРУСА ГЕПАТИТА С
Порываева В.А., Агафонова О.А., Петрушкова О.С., Туманова О.Ю., Пыринова Г.Б., Поповский А.В., Казаринова Ф.С., Ястребова О.Н., Вторушина И.А., Гришаев М.П. 176

PRODUCTION OF DIAGNOSTIC MONOCLONAL ANTIBODIES TO THE HEPATITIS C VIRUS NUCLEOCAPSID PROTEIN
Poryvaeva V.A., Agafonova O.A., Petrushkova O.S., TumanovaO.Yu., Pyrinova G.B., Popovsky A.V., Kazarinova F.S., Yastrebova O.N., Vtorushina I.A., Grishaev M.P. 177

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА ПЕРСПЕКТИВНЫХ ПРЕБИОТИКОВ
Сафронова Л.А., Диденко Г.В., Подгорский В.С., Сухов Б.Г., Джоев Ю.П.,Трофимов Б.А. . .178

IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF PERSPECTIVE PREBIOTICS
Safronova L.A., Didenko G.V., Podgorsky V.S., Sukhov B.G., Dzhioev Yu.P., Trofimov B.A. . . .179

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

КЛАСТЕРНЫЙ АНАЛИЗ ШТАММОВ FUSOBACTERIUM NECROPHORUM ДЛЯ СОЗДАНИЯ ДИАГНОСТИЧЕСКИХ И ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Хузин Д.А. 179

CLUSTER ANALYSIS OF *FUSOBACTERIUM NECROPHORUM* STRAINS FOR
Khuzin D.A. 182

СОЗДАНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ТЕРАПИИ БОЛЕЗНЕЙ ПАЛЬЦЕВ И КОПЫТЕЦ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
Хузин Д.А. 182

DRUGS DEVELOPMENT FOR PREVENTION AND THERAPY OF FINGERS AND HOOVES DISEASES OF CATTLE
Khuzin D.A. 182

СОЗДАНИЕ КОНЦЕНТРИРОВАННЫХ ФОРМ ПРЕПАРАТОВ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ ДЛЯ ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ
Короткова Т.В., Анастасиев В.В., Томилин М.В., Судакова В.В., Артеменко Е.С. 183

МОНОКЛОНАЛЬНЫЕ АНТИТЕЛА ПРОТИВ БЕЛКА ТАММА-ХОРСФОЛЛА: СОЗДАНИЕ И ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПОЧЕК
Крутецкая И.Ю., Самойлович М.П., Терехина Л.А., Климович В.Б., Климович А.В. 183

MONOCLONAL ANTIBODIES AGAINST TAMM–HORSFALL PROTEIN: DEVELOPMENT AND PROSPECTIVE APPLICATION IN RENAL PATHOLOGY DIAGNOSTICS
Krutetskaia I.Yu., Samoylovich M.P., Terekhina L.A., Klimovich V.B., Klimovich A.V.. 184

ИММУНОХИМИЧЕСКАЯ ДЕТЕКЦИЯ ЭПИДЕРМАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА – КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОГО И ПАТОГЕНЕТИЧЕСКОГО ОНКОМАРКЕРА
Пивень Н.В., Бураковский А.И., Лухверчик Л.Н., Карпенко Т.А., Тишкевич М.Н., Ястребова А.А. 185

IMMUNOCHEMICAL DETECTION OF EPIDERMAL GROWTH FACTOR – CLINICAL, DIAGNOSTIC AND PATHOGENETIC CANCER MARKER
Piven N.V., Burakovski A.I., Lukhverchyk L.N., Karpenko T.A., Tishkevich M.N., Yastrebova A.A. 185

ФОРМИРОВАНИЕ МОНОДИСПЕРСНЫХ ЧАСТИЦ ХИМЕРНЫМИ БЕЛКАМИ НА ОСНОВЕ ПОВТОРОВ ГНРГ
Охрименко И.С., Шульга А.А., Ткач Е.Н., Печникова Е.В., Соколова О.С., Зейналов О.А. 186

FORMATION OF MONODISPERSE PARTICLES BY CHIMERIC PROTEINS BASED ON GNRH REPEATS
Okhrimenko I.S., Schulga A.A., Tkach E.N., Pechnikova E.V., Sokolova O.S., Zeynalov O.A. . .187

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ОЧИСТКИ ПРЕПАРАТА АЛЬБУМИНА ЧЕЛОВЕКА
Томилин М.В., Короткова Т.В., Анастасиев В.В., Судакова В.В., Артеменко Е.С. 187

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ В ФАРМАЦИИ»
SECTION "BIOTECHNOLOGY IN THE PHARMACY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ПРОТЕИНОВ МЕДИЦИНСКОГО И ВЕТЕРИНАРНОГО НАЗНАЧЕНИЯ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСПРЕССИОННЫХ ПЛАТФОРМ НА ПРИМЕРЕ ЭКСПРЕССИИ ПЕПТИДА M2E ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ ДЛЯ СОЗДАНИЯ УНИВЕРСАЛЬНОЙ ПРОТИВОГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ
Фирсов А.П., Тарасенко И.В., Митюшкина Т.Ю., Гиляшова Н.В., Долгов С.В. 189

PRODUCTION OF RECOMBINANT PROTEINS FOR MEDICAL AND VETERINARY PURPOSES BASED ON PLANT EXPRESSION PLATFORMS ON THE EXAMPLE OF AVIAN INFLUENZA M2E PEPTIDE EXPRESSION FOR DEVELOPMENT AN UNIVERSAL INFLUENZA VACCINE
Firsov A.P., Tarasenko I.V., Mitioushkina T.Y., Gilyashova N.V., Dolgov S.V. 190

ОТ РЕГУЛЯТОРНОГО БЕЛКА К ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОМУ ПЕПТИДУ
Гудашева Т.А. 190

FROM REGULATORY PROTEIN TO THE PHARMACOLOGICAL ACTIVE PEPTIDE
T.A. Gudasheva. 191

РАЗРАБОТКА МЕТОДА ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИМЕРНЫХ НАНОЧАСТИЦ С ДАУНОРУБИЦИНОМ И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ АКТИВНОСТИ
Никольская Е.Д., Воронцов Е.А., Гукасова Н.В., Северин С.Е., Северин Е.С. 192

DEVELOPMENT OF THE METHOD FOR THE PREPARATION OF POLYMERIC NANOPARTICLES WITH DAUNORUBICIN AND THE STUDY OF THEIR ANTICANCER ACTIVITY
E.D. Nikolskaya, E.A.Vorontsov, N.V. Gukasova, S.E. Severin, E.S. Severin. 192

СТЕРЕОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Петров В.И., Воронин С.П., Спасов А.А. 193

STEREOCHEMICAL ASPECTS OF DEVELOPING BIOTECHNOLOGICAL DRUGS
Petrov V.I., Voronin S.P., Spasov A.A. 194

КЛЕТОЧНАЯ КУЛЬТУРА *THALICTRUM MINUS* L., КАК АЛЬТЕРНАТИВНЫЙ ИСТОЧНИК ЛЕКАРСТВЕННОГО СЫРЬЯ
Савина Т.А., Тертичная Ю.М., Савин П.С., Цыбулько Н.С. 194

CELL CULTURE *THALICTRUM MINUS* L., AS AN ALTERNATIVE SOURCE OF MEDICINAL HERBS
Savina T.A., Tertichnaya J.M., Savin P.S., Tsybulko N.S. 195

ВЫСОКООЧИЩЕННЫЕ РЕКОМБИНАНТНЫЕ ЦИТОХРОМЫР450 ЧЕЛОВЕКА – МИШЕНИ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Сушко Т.А., Струшкевич Н.В., Гилеп А.А., Усанов С.А. 195

HIGHLY PURIFIED RECOMBINANT CYTOCHROMEP 450 HUMANAS TARGETS FOR DEVELOPMENT OF THE NEW DRUGS
Sushko T.A., Strushkevich N.V., GilepA.A., UsanovS.A. 196

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *STREPTOMYCES LAVENDULAE* ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗЫ – КОМПОНЕНТА ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ТЕСТ-СИСТЕМЫ
Яковлева Е.П., Колодязная В.А., Булдакова Т.В. 197

OPTIMIZATION OF CULTIVATION CONDITIONS TO WORK OUT CHOLESTEROL OXIDASE (COMPONENT OF CHOLESTEROL SCREENING TESTS) PRODUCTION TECHNOLOGY BY *STREPTOMYCES LAVENDULAE*
Jakovleva E.P., Kolodyaznaya V.A., Buldakova T.V. 198

РАЗВИТИЕ СПОНТАННОГО ЛЕЙКОЗА У МЫШЕЙ ЛИНИИ АКР И ВЛИЯНИЕ НА НЕГО АНТИОКСИДАНТА ФЕНОЗАНА
Ерохин В.Н., Кременцова А.В., Бурлакова Е.Б. 198

THE DEVELOPMENT OF SPONTANEOUS LEUCOSIS IN AKR MICE AND EFFECT OF ANTIOXIDANT – PHENOSAN
Erokhin V.N., Krementsova A.V., Burlakova E.B. 199

ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЙ ТАБАКА, СОДЕРЖАЩИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ПЕПТИДА M2E ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ H5N1 В ТРАНСЛЯЦИОННОМ СЛИЯНИИ С ГЕНОМ СУБЪЕДИНИЦЫ Б РИЦИНА КЛЕЩЕВИНЫ (*RICINUS COMMUNIS*)
Тарасенко И.В., Фирсов А.П., Долгов С.В. 200

OBTAINING AND ANALYSIS OF TRANSGENIC TOBACCO PLANTS CONTAINING M2E PEPTIDE SEQUENCE OF AVIAN INFLUENZA VIRUS H5N1 IN TRANSLATIONAL FUSION WITH THE GENE SUBUNIT B OF RICIN CASTOR (*RICINUS COMMUNIS*)
Tarasenko I.V., Firsov A.P., Dolgov S.V. 200

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПРОВЕДЕНИЯ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В
Гущина Е.С., Мукомолов С.Л., Няникова Г.Г., Синайская Е.В. 201

OPTIMIZATION OF CONDUCT POLYMERASE CHAIN REACTION FOR DIAGNOSTICS OF HEPATITIS B VIRUS
E.S. Gushchina, S.L. Mukomolov, G.G. Nyanikova, E.V. Sinyayskaya. 202

РАЗРАБОТКА НОВОГО МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ АКТИНОМИЦЕТОВ-ЭНДОФИТОВ И ВЫЯВЛЕНИЕ КУЛЬТУР, ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
Мачавариани Н.Г., Галатенко О.А., Терехова Л.П. 202

DEVELOPMENT OF A NEW METHOD OF ISOLATING ACTINOMYCETES-ENDOPHYTES AND DETECTION OF CULTURES, POTENTIAL FOR BIOTECHNOLOGICAL USE
Machavariani N.G., Galatenko O.A., Terekhova L.. 203

ИЗУЧЕНИЕ КОЛЛАГЕНАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ГРИБОВ КЛАССА BASIDIOMYCETES
Мацюлявичене А.В., Дубинина И.В., Шамцян М.М. 203

THE STUDY OF THE COLLAGENASE ACTIVITY OF BASIDIOMYCETES MUSHROOMS
Matsyulyavichene A.V., Dubinina I.V., Shamtsyan M.M. 204

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЗМА АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ ГЕМИНА (ПГ) С ПОМОЩЬЮ LUX – БИОСЕНСОРОВ
Пономарёв К.А., Сидорук К.В., Желтухина Г.А., Окороченков С.А., Небольсин В.Е. 204

THE MECHANISM OF HEMIN DERIVATIVES (HD) ANTIBACTERIAL ACTIVITY INVESTIGATION USING LUX – BIOSENSORS
Ponomarjov K.A., Sidoruk K.V., Zheltukhina G.A., Okorochenkov S.A., Nebolsin V.E. 205

СЕРИН-ТРЕОНИНОВЫЕ ПРОТЕИНКИНАЗЫ *MYCOBACTERIUM TUBERCLOSIS* – МИШЕНИ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ПРОТИВОТУБЕРКУЛЕЗНЫХ ПРЕПАРАТОВ
Михайлова Е.Б., Осолодкин Д.И., Палюлин В.А., Зефиров Н.С. 206

THE SERINE/THREONINE PROTEIN KINASES FROM *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* AS TARGETS FOR THE ANTITUBERCULAR DRUGS
Mikhaylova E.B., Osolodkin D.I., Palyulin V.A., Zefirov N.S. 206

ПОИСК ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ПРЕДСТАВИТЕЛЯХ РОДА КАЛАНХОЕ (*KALANCHOE* L.)
Сажина Н.Н., Лапшин П.В., Загоскина Н.В. 207

SEARCH OF POTENTIAL SOURCES OF BIOLOGICALLY ACTIVE COMPOUNDS IN SPECIES OF THE GENUS KALANCHOE (*KALANCHOE* L.)
Sazhina N.N., Lapshin P.V., Zagoskina N.V. 208

ИЗУЧЕНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ АКТИНОМИЦЕТОВ – ПРОДУЦЕНТОВ АНТИБИОТИКОВ ПРИ ХРАНЕНИИ В УСЛОВИЯХ НИЗКИХ ТЕМПЕРАТУР
Синева О.Н., Галатенко О.А., Филиппова С.Н. Терехова Л.П. 208

STUDY OF THE SURVIVAL RATE OF ACTINOMYCETES, ANTIBIOTIC PRODUCERS, DURING STORAGE AT LOW TEMPERATURES
Sineva O.N., Galatenko O.A., Filippova S.N., Terekhova L.P. 209

ГИБРИДНЫЕ БЕЛКИ, ОБЛАДАЮЩИЕ СПЕЦИФИЧНОСТЬЮ К МОЛЕКУЛАМ КЛЕТОЧНОЙ АДГЕЗИИ, ГИПЕРЭКСПРЕССИРУЮЩИМСЯ ПРИ РАКЕ, ДЛЯ СОЗДАНИЯ ПРОТИВОРАКОВЫХ АГЕНТОВ И ДИАГНОСТИЧЕСКИХ СРЕДСТВ
Сыркина М.С., Рубцов М.А., Широков Д.А., Вейко В.П. 209

FUSION PROTEINS TARGETING TO CELL ADHESION MOLECULES, OVEREXPRESSED IN CANCER CELL, PROMISING IN CANCER DIAGNOSTIC AND THERAPY
M.S.Syrkina, M.A.Rubtsov, D.A.Shirokov, V.P.Veiko 210

ИССЛЕДОВАНИЕ ХИМИЧЕСКИХ, АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ И ЛЕЧЕБНЫХ СВОЙСТВ АНТИБИОТИКА-ПЕПТОЛИДА А-70, ОБРАЗУЕМОГО *STREPTOMYCESSP*.ИМВ 70.
Треножникова Л.П., Федорова Г.Б., Хасенова А.Х., Балгимбаева А.С., Катруха Г.С., Бу Х. Ква, АзлиатиАзизан 211

ANTIBIOTIC-PEPTOLIDE PRODUCED BY *STREPTOMYCES SP*. IMV 70, ITS CHEMISTRY, ANTIBACTERIAL AND CHEMOTHERAPEUTIC CHARACTERISTICS
Trenozhnikova L.P., Fedorova G.B., Khasenova A.Kh., Balgimbaeva A.S., Katrukha G.S., Boo H. Kwa and Azliyati Azizan. 211

НИЗКИЕ И СВЕРХНИЗКИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ АНТИОКСИДАНТОВ ОБЛАДАЮТ СВОЙСТВАМИ АДАПТОГЕНОВ К СТРЕССОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ
Жигачева И.В., Бурлакова Е.Б., Голощапов А.Н.. 212

ANTIOXIDANTS AT LOW AND SUPERLOW CONCENTRATIONS HAVE THE PROPERTIES OF ADAPTOGENS TO STRESSES
I.V. Zhigacheva, E.B. Burlakova, A.N. Goloshchapov 213

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ЛАК ДЛЯ ЗАЩИТЫ ОТ БИОКОРРОЗИИ
Акопян В.Б., Афонин А.В., Бамбура М.В., Ступин А.Ю., Филатова В.А. 213

VARNISH FOR PROTECTION AGAINST BIOLOGICAL CORROSION
Akopyan V.B., Afonin A.V., Bambura M.V., Stupin A.Yu., Filatova V.A. 214

КАРАНДАШ ДЛЯ НАНЕСЕНИЯ ЗАЩИТНОГО ПОКРЫТИЯ
Акопян В.Б., Бамбура М.В., Филатова В.А.. 214

CRAYONS FOR APPLYING A PROTECTIVE COVERS
Akopyan V.B., Bambura M.V., Filatova V.A. 215

ВЛИЯНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ПЕЧЕНИ МЫШЕЙ
Бурлакова Е.Б., Козаченко А.И., Наглер Л.Г., Мишарина Т.А., Алинкина Е.С., Фаткуллина Л.Д. 215

EFFECT OF ESSENTIAL OILS ON ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES IN MICE LIVER
Burlakova E.B., Kozachenko A.I., Nagler L.G., Misharina T.A., Alinkina E.S., Fatkullina L.D. 216

АНТГЕЛЬМИНТНЫЕ СУБСТАНЦИИ: ПРОБЛЕМЫ, ТЕНДЕНЦИИ, ПЕРСПЕКТИВЫ
Джафаров М.Х., Заварзин И.В.. 216

ANTHELMINTIC SUBSTANCES: PROBLEMS, TENDENCIES, AND PROSPECTS
Dzhafarov M. Kh., Zavarzin I.V.. 217

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ АСКОМИЦЕТНОГО ГРИБА *XYLARIA ACUTA*
Тихонова О.В., Васильева Б.Ф., Ефременкова О.В., Зенкова В.А., Катруха Г.С., Резникова М.И., Королев А.М., Дьяков М.Ю., Биланенко Е.Н., Камзолкина О.В. 218

ANALYSIS OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF ASCOMYCETE FUNGUS *XYLARIA ACUTA*
Tikhonova O.V., Vasiljeva B.F., Efremenkova O.V., Zenkova V.A., Katrukha G.S., Reznikova M.I., Korolev A.M., Dyakov M.Yu., E.N. Bilanenko E.N., O.V. Kamzolkina O.V. . . .218

ОПИСАНИЕ АНТИБИОТИКА АКТИНОМИЦЕТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ, ЭФФЕКТИВНОГО В ОТНОШЕНИИ МЕТИЦИЛИН-РЕЗИСТЕНТНЫХ СТАФИЛОКОККОВ
Лысенкова Л.Н., Катруха Г.С., Шашков А.С., Королев А.М., Галатенко О.А., Терехова Л.П., Сумарукова И.Г., Козлов Д.Г., Макарова М.О., Гладких Е.Г. Ефременкова О.В. 219

DESCRIPTION OF THE ACTINOMYCETE PRODUCED ANTIBIOTIC, EFFECTIVE AGAINST METHICILLIN-RESISTANT *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
Lysenkova L.N., Katrukha G.S., Shashkov A.S., Korolev A.M., Galatenko O.A., Terekhova L.P., Sumarukova I.G., Koslov D.G., Makarova M.O., Gladkikh E.G., Efremenkova O.V. 220

ВЛИЯНИЕ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ НА ХАРАКТЕРИСТИКИ ЭРИТРОЦИТОВ МЫШЕЙ
Фаткуллина Л.Д., Мишарина Т.А., Алинкина Е.С., Медведева И.Б., Бурлакова Е.Б. 220

EFFECT OF INTAKE OF ESSENTIAL OILS ON CHARACTERISTICS OF MICE ERYTHROCYTE
Fatkullina L.D., Misharina T.A., Alinkina E.S., Medvedeva I.B., Burlakova E.B.. 221

СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТНЫЕ БИОТЕСТ-СИСТЕМЫ КАК ИНСТРУМЕНТ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО СКРИНИНГА
Ферубко Е.В., Лупанова И.А., Леонидова Ю.А., Стрелкова Л.Б., Колхир В.К. 222

SPECIFIC ENZYMATIC BIOTEST-SYSTEMS AS PHARMACOLOGICAL SCREENING TOOL
Ferubko E.V., Lupanova I.A., Leonidova Yu.A., Strelkova L.B., Kolkhir V.K. 223

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ КЕРАТИНАЗЫ *PENICILLIUM CITRINUM* С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Гордонова И.К., Никитина З.К., Быков В.А. 223

***PENICILLIUM CITRINUM* KERATINASE BIOPHARMACEUTICAL STUDY FOR NEW DRUGS CREATION**
Gordonova I.K., Nikitina Z.K., Bykov V.A. 224

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ СТЕРОИД-ТРАСФОРМИРУЮЩИХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ГРИБНЫХ КЛЕТОК, ИММОБИЛИЗОВАННЫХ В ГРАНУЛЫ КРИОГЕЛЯ ПВС
Карпова Н.В., Андрюшина В.А., Дружинина А.В., Стыценко Т.С., Ядерец В.В., Рябев А.Н., Подорожко Е.А., Лозинский В.И. 225

EXAMINATION OF EFFICIENCY FOR THE STEROID-TRANSFORMING BACTERIAL AND FUNGAL CELLS BEING IMMOBILIZED IN BEADED PVA CRYOGEL
Karpova N.V., Andryushina V.A., Druzhinina A.V., Stytsenko T.S., Yaderetz V.V., Ryabev A.N., Podorozhko E.A., Lozinsky V.I. 225

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИНИМАЛЬНЫХ ПОДАВЛЯЮЩИХ КОНЦЕНТРАЦИЙ АНТИМИКОТИКОВ В ОТНОШЕНИИ ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*
Криштопина А.С., Рока В.В., Няникова Г.Г. 226

DETERMINATION OF THE MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATIONS OF ANTIFUNGAL DRUGS FOR YEAST-LIKE FUNGI OF THE *CANDIDA* GENUS
Krishtopina A.S., Roca V.W., Nyanikova G.G. 227

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ РАСТИТЕЛЬНЫХ МЕЛАНИНОВ КАК ОСНОВА ИХ ПРИМЕНЕНИЯ В МЕДИЦИНЕ И КОСМЕТОЛОГИИ
Мирзаев М.Н., Мельницкая Т.И., Зверьков Д.А., Сопов Л.П., Почтарев А.Н. 227

PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF PLANT MELANIN AS THE BASIS OF THEIR APPLICATION IN MEDICINE AND COSMETOLOGY
Mirzaev M.N., Melnitskaya T.I., Zverkov D.A., Sopov L.P., Pochtarev A.N. 228

БИОАНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ЭФИРНЫХ МАСЕЛ
Мишарина Т.А., Алинкина Е.С., Фаткуллина Л.Д., Медведева И.Б., Бурлакова Е.Б. 228

BIOANTIOXIDANT PROPERTIES OF ESSENTIAL OILS
Misharina T.A., Alinkina E.S., Fatkullina L.D., Medvedeva I.B., Burlakova E.B. 229

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАКТОРОВ ПРЕПЯТСТВУЮЩИХ ПРАВИЛЬНОМУ ФОЛДИНГУ РЕКОМБИНАНТНОГО ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО ИНТЕРФЕРОНА А-2В
Панкеев Н.Н., Кононова Н.В., Бобрускин А.И., Швец В.И. 230

INVESTIGATION OF FACTORS INFLUENCING PROPER FOLDING OF RECOMBINANT HUMAN INTERFERON ALPHA-2B
N.N. Pankeev, N.V. Kononova, A.I. Bobruskin, V.I. Shvets 231

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA* В ПОЛУЧЕНИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ И АНТИМИКРОБНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ
Садыкова В.С., Федорова Г.Б., Катруха Г.С., Кураков А.В., Лысенко А.Е. 231

PERSPECTIVE OF TRICHODERMA METABOLITES AND EXTRACTS FOR THE CREATION OF NEW PHARMACEUTICAL PRODUCT WITH ANTICANCER ACTIVITY
Sadykova V.S. 232

СКРИНИНГ НЕМАТОЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АВЕРМЕКТИНОВ B_1 И НЕКОТОРЫХ СОЕДИНЕНИЙ СТЕРОИДНОЙ ПРИРОДЫ
Джафаров М.Х., Мирзаев М.Н., Василевич Ф.И., Заварзин И.В., Мельницкая Т.И. 233

SCREENING OF NEMATOCIDE ACTIVITY OF THE NEW DERIVATIVES OF AVERMECTINS B1 AND SOME COMPOUNDS OF STEROID NATURE
Dzhafarov M. Kh., Mirzaev M.N., Vasilevich F.I., Zavarzin I.V., Melnitskaya T.I. 234

ИЗУЧЕНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ВАНАДИЯ В КЛЕТОЧНЫХ ФРАКЦИЯХ ЦИАНОБАКТЕРИИ SPIRULINA MAXIMA
Васильева С.Г., Седых И.М., Лукьянов А.А., Васильев В.Г., Тамбиев А.Х. 234

THE INVESTIGATION OF VANADIUM DISTRIBUTION IN CELL'S FRACTIONS OF CYANOBACTERIUM SPIRULINA MAXIMA
Vasilieva S.G., Sedykh I.M., Lukyanov A.A., Vasiliev V.G., Tambiev A.H. 235

БЕЛКОВЫЕ КОМПОНЕНТЫ ФАСОЛИ И ПОЛУЧЕНИЕ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ ЛЕКТИНОВ
Жумабаева Б.А., Айташева З.Г., Джангалина Э.Д., Бекебаева Ж.Н., Уразова Ж.А. 236

PROTEIN COMPONENTS OF COMMON BEAN SEED AND ISOLATION OF HIGH-LECTIN CELL CULTURES
Zhumabaeva, B.A., Aytasheva, Z.G., Dzhangalina 236

СЕКЦИЯ «БИОИНФОРМАТИКА»
SECTION "BIOINFORMATICS"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

КОМПЬЮТЕРНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ФЕНОТИПИРОВАНИЯ ПШЕНИЦЫ
Афонников Д.А., Дорошков А.В., Генаев М.А., Пшеничникова Т.А., Тарасова И.А., Морозова Е.В., Симонов А.В.. 238

COMPUTER APPROACHES TO WHEAT PHENOTYPING
Afonnikov D.A., Doroshkov A.V., Genaev M.A., Pshenichnikova T.A., Tarasova I.A., Morozova E.V., Simonov A.V. 238

БЫСТРАЯ РАЗРАБОТКА ВАКЦИН НА ОСНОВЕ ПОЛНОГЕНОМНОГО СКРИНИНГА ПРОТЕКТИВНЫХ АНТИГЕНОВ В БАКТЕРИАЛЬНЫХ И ВИРУСНЫХ ПРОТЕОМАХ
Боровков А.Ю.. 239

THE RAPID DEVELOPMENT OF VACCINES BASED ON GENOME-SCREENING OF PROTECTIVE ANTIGENS IN BACTERIAL AND VIRAL PROTEOMES
Alex Y. Borovkov, Kathryn F. Sykes, Andrey V. Loskutov 239

АВТОМАТИЧЕСКОЕ ИЗВЛЕЧЕНИЕ ЗНАНИЙ ИЗ ТЕКСТОВ В ОБЛАСТИ БИОМЕДИЦИНЫ И БИОТЕХНОЛОГИИ
Иванисенко В.А., Деменков П.С. 240

AUTOMATIC EXTRACTION OF KNOWLEDGE FROM TEXTS IN THE FIELD OF BIOMEDICINE AND BIOTECHNOLOGY
Ivanisenko V.A., Demenkov P.S.. 240

ПРОГРАММНЫЙ КОМПЛЕКС L-MOLKERN ДЛЯ РАСЧЕТОВ РАЗНОСТЕЙ СВОБОДНЫХ ЭНЕРГИЙ С УЧЕТОМ ЭФФЕКТОВ ПОЛЯРИЗАЦИИ
Фомин Э.С., Алемасов Н.А. 241

L-MOLKERN SOFTWARE FOR CAPTURING POLARIZATION EFFECTS IN FREE ENERGY CALCULATIONS
Fomin E.S., Alemasov N.A. 242

СЕМЕЙСТВА ПЛАСТОМНЫХ БЕЛКОВ ЗЕЛЁНЫХ ВОДОРОСЛЕЙ И РАСТЕНИЙ
Любецкий В.А., Селиверстов А.В., Зверков О.А. 242

PROTEIN FAMILIES IN PLASTOMES OF PLANTS AND GREEN ALGAE
Luybetsky V.A., Seliverstov A.V., Zverkov O.A. 243

КОРРЕЛЯЦИЯ СВОЙСТВ ПЕРВИЧНОЙ СТРУКТУРЫ ПРОМОТОРНЫХ ОБЛАСТЕЙ И КОДИРУЮЩИХ ЧАСТЕЙ ГЕНОВ НЕКОТОРЫХ ОДНОКЛЕТОЧНЫХ ОРГАНИЗМОВ
Матушкин Ю.Г., Орлов Ю.Л., Лихошвай В.А., Левицкий В.Г.. 243

CORRELATION BETWEEN SOME PROPERTIES OF THE PRIMARY STRUCTURE OF PROMOTER REGIONS AND GENE CODING SEQUENCES FOR SOME UNICELLULAR ORGANISMS
Matushkin Yu.G., Orlov Yu.L., Likhoshvai V.A., Levitsky V.G. 244

ОСОБЕННОСТИ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АУКСИН-ЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ САЙТОВ В ГЕНОМЕ *ARABIDOPSISTHALIANAL*
Миронова В.В.,Омельянчук Н.А., Левицкий В.Г. 245

DISTRIBUTION OF AUXIN RESPONSIVE ELEMENTS IN *ARABIDOPSIS THALIANA L.*GENOME
Mironova V.V., Omelyanchuk N.A., Levitsky V.G. 245

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ВЫСОКОСПЕЦИФИЧНОГО УЗНАВАНИЯ В МОНООКСИГЕНАЗНЫХ СИСТЕМАХ
Муха Д. В., Диченко Я. В., Бритиков В. В., Янцевич А. В., Гилеп А. А., Усанов С. А.. 246

MOLECULAR MECHANISMS OF HIGHLY SPECIFIC RECOGNITION IN MONOOXYGENASE SYSTEMS
Mukha D. V., Dichenko Y. V., Britikov V. V., Yantsevich A. V., Gilep A. A., Usanov S. A. 247

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ВНЕШНИХ ФАКТОРОВ НА КОНФОРМАЦИОННУЮ ПОДВИЖНОСТЬ РОДОПСИН-ПОДОБНЫХ РЕЦЕПТОРОВ МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ДИНАМИКИ И СТРУКТУРНОЙ БИОИНФОРМАТИКИ
Новиков Г.В., Сивожелезов В.С., Шайтан К.В. 248

INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF THE EXTERNAL FACTORS ON THE CONFORMATIONAL DYNAMICS OF THE RHODOPSIN-LIKE RECEPTORS BY MEANS OF MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION AND STRUCTURAL BIOINFORMATICS
G.V.Novikov, V.S. Sivozhelezov and K.V. Shaitan 249

КОМПЬЮТЕРНАЯ ОЦЕНКА ПЛЕЙОТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВ
Лагунин А.А., Погодин П.В., Шатинина С.З., Поройков В.В. 249

COMPUTER-AIDED ESTIMATION OF PLEIOTROPIC EFFECTS OF DRUGS
Lagunin A.A., Pogodin P.V., Shatinina S.Z., Poroikov V.V. 250

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ В КОНТЕКСТЕ БОЛЬШИХ НАБОРОВ КЛИНИЧЕСКИХ ДАННЫХ
Андрей Ржецкий 250

COMPARISON OF GENETIC MODELS WITH RESPECT TO THEIR FIT TO VERY LARGE CLINICAL DATASETS
Andrey Rzhetsky. 251

ИССЛЕДОВАНИЕ НУКЛЕОСОМ И ЭЛОНГАЦИОННЫХ КОМПЛЕКСОВ МЕТОДАМИ АТОМИСТИЧЕСКОГО КОМПЬЮТЕРНОГО МОДЕЛИРОВАНИЯ
Шайтан А.К., Армеев Г.А., Блинов В.Н., Севенюк А.А., Студитский В.М.. 251

ATOMISTIC COMPUTER MODELING OF NUCLEOSOMES AND ELONGATION COMPLEXES
Shaytan A.K., Armeev G.A., Blinov V.N., Sevenyuk A.A., Studitsky V.M.. 252

БИОКНОЛ – СОЦИАЛЬНАЯ СЕТЬ ДЛЯ МОЛЕКУЛЯРНЫХ БИОЛОГОВ
Шилов Б.В., Корнюшко В.Ф., Швец В.И., Лисица А.В., Евдокимов П.А. 252

BIOKNOL – THE SOCIAL NETWORK FOR MOLECULAR BIOLOGISTS
Shilov B.V., Korniushko V.F., Shvets V.I., Lisitsa A.V., Evdokimov P.A. 253

АВТОМАТИЗИРОВАННАЯ БИОМЕДИЦИНСКАЯ ИНФОРМАЦИОННАЯ СИСТЕМА ЧЕЛОВЕК-ГЕНОТИП-СРЕДА ОБИТАНИЯ-ФЕНОТИП
Шлихт А.Г., Краморенко Н.В.. 254

AUTOMATED BIOMEDICAL INFORMATION SYSTEM MAN-GENOTYPE-PHENOTYPE-HABITAT
Shlikht A.G., Kramorenko N.V.. 254

КОМПЬЮТЕРНОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПОСТТРАНСЛЯЦИОННЫХ МОДИФИКАЦИЙ В БЕЛКАХ
Соболев Б.Н., Веселовский А.В., Коборова О.Н., Погодин П.В., Поройков В.В. 255

COMPUTATIONAL PREDICTION OF POSTTRANSLATIONAL MODIFICATIONS IN PROTEINS
Sobolev B.N., Veselosky A.V., Koborova O.N., Pogodin P.V., Poroikov V.V. 256

RULE-BASED МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ИНИЦИАЦИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ТРАНСКРИПЦИИ
Сорокин А.А.. 256

RULE-BASED MODELLING OF THE BACTERIAL TRANSCRIPTION INITIATION
Sorokin A.A.. 257

ВОЗРОЖДЕННЫЙ АНАЛИЗ ФОСФОЛИПИДОВ ЖИРНЫХ КИСЛОТ: ПРИМЕНЕНИЕ В МОНИТОРИНГЕ МИКРОБНЫХ ПРОЦЕССОВ
Иосиф Трегл, Павел Курань, Яна Павлоркова, Петра Земанкова, Мирослава Кисликова, Петр Котек, Гана Бурдова, Дагмар Гофманова, Ивана Иркова, Барбора Гонькова, Петра Данева, Вера Пилажова,Татьяна Бровдыова, Люцие Кржикланова 258

PHOSPHOLIPID FATTY ACIDS ANALYSIS REVIVED: APPLICATIONS IN MONITORING OF MICROBIAL PROCESSES
Josef Trögl, Pavel Kuráň, Jana Pavlorková, Petra Zemánková, Miroslava Kysliková, Petr Kotek, Hana Burdová, Dagmar Hofmanová, Ivana Jirková, Barbora Hoňková, Petra Dáňová, Věra Pilařová, Taťjána Brovdyová, Lucie Křiklavová 258

КОМПЬЮТЕРНЫЕ БИОИНФОРМАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ПОИСКЕ СЕЛЕКТИВНЫХ ЛИГАНДОВ
Васильев П.М., Спасов А.А., Яковлев Д.С., Мальцев Д.В., Анисимова В.А. 259

***IN SILICO* BIOINFORMATION TECHNOLOGY IN SEARCH FOR SELECTIVE LIGANDS**
Vassiliev P.M., Spasov A.A., Jakovlev D.S., Maltsev D.V., Anisimova V.A. 260

ПОСТРОЕНИЕ ГЕННОЙ РЕГУЛЯТОРНОЙ СЕТИ ПРОЦЕССА ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ КАРДИОМИОЦИТОВ
Вингендер Едгар, Бар Анирбан, Гауброк Мартин, Лии Джии 260

CONSTRUCTION OF GENE REGULATORY NETWORKS OF CARDIOMYOCYTE DIFFERENTIATION
Edgar Wingender, Anirban Bhar, Martin Haubrock, Jie Lie. 261

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕКТРОСТАТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ПРОМОТОРНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ *E.COLI*
Темлякова Е.А., Сорокин А.А. 262

ANALYSIS OF ELECTROSTATIC PROPERTIES OF *E.COLI* PROMOTER REGIONS
Temlyakova E.A., Sorokin A.A. 263

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И ПРОМЫШЛЕННОСТЬ»
SECTION "BIOTECHNOLOGY AND INDUSTRY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ СТЕРИЛИЗАЦИИ НА КАЧЕСТВО ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД
Алексинцева О.А., Топкова О.В. 264

EFFECT OF STERILIZATION AT NUTRIENT MEDIAS.
Alexintseva O.A., Topkova O.V. 264

ПРИМЕНЕНИЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ И БИОКОМПОНЕНТОВ ИЗ СОЛОДКИ ГОЛОЙ *GLYCYRRHIZA GLABRA*, ЦМИНА ПЕСЧАНОГО *HELICRYSUM ARENARIUM* И ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА МЕЛКОЦВЕТКОВОГО *ACHILLEA MICRANTHA* АРИДНОЙ ЗОНЫ
Астафьева О.В., Егоров М.А., Сухенко Л.Т. 265

THE USE OF PLANT EXTRACTS AND BIOLOGICAL COMPONENTS FROM LICORICE *GLYCYRRHIZA GLABRA*, IMMORTELLE *HELICRYSUM ARENARIUM* AND YARROW *ACHILLEA MICRANTHA* FROM ARID ZONES
Astafyeva O.V., Egorov M.A., Sukhenko L.T.. 265

БИОТЕХНОЛОГИЯ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ С ПОВЫШЕННОЙ ТЕРМОСТАБИЛЬНОСТЬЮ
Черенков Д.А., Першина Е.В., Кирьянова С.В., Анненков В.А., Кондратьев М.С., Кабанов А.В., Корнеева О.С. 266

BIOTECHNOLOGY OF RECOMBINANT THERMOSTABLE ENZYMES
Cherenkov D.A., Pershina E.V., Kiryanova S.V., Annenkov V.A., Kondratiev M.S., Kabanov A.V., Korneeva O.S. 267

ПРИМЕНЕНИЕ ГИБКОЙ СХЕМЫ СОРБЦИОННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ВЫДЕЛЕНИЯ И ОЧИСТКИ ФЕРМЕНТОВ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ПОСЛЕДУЮЩЕГО СОЗДАНИЯ БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ КОМПОЗИЦИЙ
Декунов С.С., Глазова Н.В., Серкова А.Н. 267

APPLICATION OF FLEXIBLE CIRCUIT OF SORPTION TECHNOLOGY FOR ISOLATION AND PURIFICATION OF ENZYMES FROM PLANT AND ANIMAL MATERIALS FOR THE CREATION OF BIOPHARMACEUTICAL COMPOSITION
Dekunov S.S., Glazova N.V., Serkova A.N. 268

АППАРАТУРНОЕ ОФОРМЛЕНИЕ ПРОЦЕССА НАНЕСЕНИЯ ПЛЕНОЧНЫХ ПОКРЫТИЙ НА ТВЕРДЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ФОРМЫ
Флисюк Е.В. 268

HARDWARE REGISTRATION OF PROCESS OF DRAWING OF FILM COVERINGS ON FIRM MEDICINAL FORMS
Flisjuk E.V. 269

ИННОВАЦИОННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНЫХ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР
Каухова И.Е., Слепян Л.И., Громова О.Н., Басевич А.В., Пивоварова Н.В.. 269

INNOVATIVE TECHNOLOGIES OF THE DRUGS BASED ON PLANT TISSUE CULTURES
I.Y. Kaukhova, L.I. Slepyan, O.N. Gromova, A.V.Basevich, N.S.Pivovarova 270

ТЕХНОЛОГИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ КОМПЛЕКСНЫХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ ИЗ ФУКУСОВЫХ ВОДОРОСЛЕЙ
Облучинская Е.Д. 271

TECHNOLOGY AND APPLICATION OF COMPLEX BIOTECHNOLOGICAL PREPARATIONS FROM FUCUS SEAWEED
Obluchinskaya E.D. 271

БИОКАТАЛИТИЧЕСКАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ПРОИЗВОДСТВА L-АСПАРГИНОВОЙ КИСЛОТЫ И РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННЫХ ПРОДУКТОВ НА ЕЁ ОСНОВЕ
Полунина Е.Е. 272

BIOCATALYTIC TECHNOLOGY OF L-ASPARTIC ACID AND DEVELOPMENT OF INNOVATIVE PRODUCTS BASED ON IT
Polunina E.E. 273

КОМПОЗИЦИОННЫЙ ВЕТЕРИНАРНЫЙ ПРЕПАРАТ «БЕТУЛИН В УГЛЕРОДНОЙ МИКРОСФЕРЕ»: ОСОБЕННОСТИ СИНТЕЗА, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ОСНОВНЫЕ ЭФФЕКТЫ ФАРМАКОДИНАМИКИ
Лавренов А.В., Пьянова Л.Г., Герунова Л.К., Седанова А.В. 273

СВОБОДНЫЕ РАДИКАЛЫ КАК КАТАЛИЗАТОРЫ ВТОРИЧНЫХ ПРОЦЕССОВ В УСЛОВИЯХ ПЕРЕРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОЙ БИОМАССЫ
Разумовский С.Д., Жорин В.А., Коварский А.Л., Каспаров В.В., Киреева Г.Х., Варфоломеев С.Д. 274

ГИДРОБИОНТЫ КАК ИСТОЧНИК БАВ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ
Шиков А.Н., Пожарицкая О.Н., Уракова И.Н., Макарова М.Н., Макаров В.Г.. 275

HYDROBIONTS AS A SOURCE OF BIOLOGICAL ACTIVE COMPOUNDS FOR BIOTECHNOLOGICAL PREPARATIONS
Shikov A.N., Pozharitskaya O.N., Urakova I.N., Makarova M.N., Makarov V.G. 275

ОПЫТ СОЗДАНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ТЕХНОЛОГИИ ПРОМЫШЛЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА ГЕННО-ИНЖЕНЕРНОГО ИНСУЛИНА ЧЕЛОВЕКА ПОЛНОГО ЦИКЛА – ОТ СУБСТАНЦИИ ДО ГОТОВОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ
Степанов Алексей Вячеславович 276

СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ИННОВАЦИОННЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ДОБАВОК ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА КОРМОВ
Ушакова Н.А., Правдин В.Г., Кравцова Л.З. 276

STATUS AND PROSPECTS OF DOMESTIC INNOVATIVE PROBIOTIC SUPPLEMENTS TO IMPROVE THE QUALITY OF FEED
Ushakova N.A., Pravdin V.G., Kravtsova L.Z. 277

ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА СОВМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДСТВ.
Жук Ольга Вадимовна. 277

QUALITY ASSURANCE OF COMBINED MANUFACTURES.
Zhuk Olga Vadimovna 278

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ И ХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА ЭКСТРАКТОВ КОРНЯ СОЛОДКИ ГОЛОЙ *GLYCYRRHIZA GLABRA*, СОЦВЕТИЙ ЦМИНА ПЕСЧАНОГО *HELICRYSUM ARENARIUM* И ТЫСЯЧЕЛИСТНИКА МЕЛКОЦВЕТКОВОГО *ACHILLEA MICRANTHA* ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИХ В КАЧЕСТВЕ ПРОТИВОМИКРОБНЫХ КОМПОНЕНТОВ БИОПРЕПАРАТОВ
Астафьева О.В. 279

THE STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND CHEMICAL COMPOSITION OF EXTRACTS OF ROOT OF LICORICE *GLYCYRRHIZA GLABRA*, INFLORESCENCE OF IMMORTELLE *HELICRYSUM ARENARIUM* AND YARROW *ACHILLEA MICRANTHA* FOR USE AS ANTIMICROBIAL COMPONENTS OF BIOPRODUCTS
Astafyeva O.V. 280

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ БИОКОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ФЕРМЕНТНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ РАЗЛИЧНЫХ ГРИБНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ
Чекушина А.В., Синицын А.П.. 280

COMPARATIVE ANALYSIS OF PLANT RAW MATERIALS BIOCONVERSION BY ENZYME PREPARATIONS FROM DIFFERENT FUNGI PRODUCERS
Chekushina A.V., Sinitsyn A.P. 281

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ БИОСИНТЕЗА КАРОТИНОИДОВ ДРОЖЖЕЙ РОДА RHODOTORULA
Червякова О.П., Парфенова М.Д., Суясов Н.А., Шакир И.В. 281

INTENSIFICATION OF CAROTENOID BIOSYNTHESIS OF YEAST GENUS RHODOTORULA
Chervyakova O.P., Parfenova M.D., Suyasov N.A., Shakir I.V. 282

АДАПТИВНАЯ ЭВОЛЮЦИЯ *ESCHERICHIA COLI* K-12 MG1655 ПРИ РОСТЕ НА ЭТАНОЛЕ
Еремина Н.С., Стойнова Н.В., Ямпольская Т.А. 283

ADAPTIVE EVOLUTION OF *ESCHERICHIA COLI* K-12 MG1655 DURING GROWTH ON ETHANOL
Eremina N.S., Stoynova N.V., Yampolskaya T.A. 283

МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ПЕЧАТНЫЕ ЭЛЕКТРОДЫ ДЛЯ МНОГОКАНАЛЬНОГО АНАЛИЗА ПОЛУПРОДУКТОВ БРОЖЕНИЯ
Каманин С.С., Балахонова А.И., Арляпов В.А. 284

MODIFIED SCREEN-PRINTED ELECTRODES FOR MULTICHANNEL ANALYSIS OF FERMENTATION INTERMEDIATES
Kamanin S.S., Balahonova A.I., Arlyapov V.A.. 285

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ДСК ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ГИДРОЛИЗА БИОРАЗЛАГАЕМЫХ КОМПОЗИЦИЙ СОПОЛИМЕРОВ ПРОПИЛЕНА И ЭТИЛЕНА С ДРЕВЕСНЫМ НАПОЛНИТЕЛЕМ
Колесникова Н.Н., Луканина Ю.К., Попов А.А. 285

APPLICATION OF DSC TO STUDY THE HYDROLYSIS OF BIODEGRADABLE COMPOSITIONS OF PROPYLENE AND ETHYLENE COPOLYMERS WITH WOOD FILLER
Kolesnikova N.N., Lukanina Yu.K., A. Popov A.A. 286

БИООБРАСТАНИЕ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ ПОЛИПРОПИЛЕН/ЦЕЛЛЮЛОЗА В ПОЧВЕ
Луканина Ю.К., Королева А.В., Хватов А.В., Колесникова Н.Н., Попов А.А.. 287

BIOFOULING OF POLYPROPYLENE/CELLULOSE COMPOSITE C MATERIALS IN SOIL
Lukanina Yu.K., Koroleva A.V., Khvatov A.V., Kolesnikova N.N., Popov A.A. 287

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОКОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭКОЛОГИЧЕСКИ БЕЗОПАСНОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО СВЯЗУЮЩЕГО СОДЕРЖАЩЕГО ПОЛИСАХАРИД ЛЕВАН
Новокупцев Н.В., Ревин В.В. 288

TECHNOLOGY FOR PRODUCING BIO-COMPOSITE MATERIALS WITH ENVIRONMENTALLY SAFE BIOLOGICAL BINDER CONTAINING POLYSACCHARIDE LEVAN
Novokuptsev N.V., Revin V.V. 289

ВЛИЯНИЕ СРОКОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЗЕЛЕНЫХ ПРОТОКОККОВЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА СОДЕРЖАНИЕ ЛИПИДОВ В КЛЕТКАХ
Оразова С.Б., Джокебаева С.А., Карпенюк Т.А., Гончарова А.В., Цуркан Я.С., Утегенова Г.А., Кайрат Б. 289

THE INFLUENCE OF CULTIVATION TIME OF GREEN PROTOCOCCAL MICROALGAE TO LIPID CONTENT IN CELLS
Orazova S.B., Dzhokebaeva S.A., Karpenyuk T.A., Goncharova A.V., Tzurkan Y.S., Utegenova G.A., Kayrat B. 290

ГЛИКОЗИЛГИДРОЛАЗЫ 61 СЕМЬИ ГРИБА *CHRYSOSPORIUM LUCKNOWENSE* КАК НОВЫЙ КОМПОНЕНТ ФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА ДЛЯ БИОКОНВЕРСИИ ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗНОЙ БИОМАССЫ
Проскурина О.В., Синицын А.П. 290

GLYCOSYL HYDROLASES OF FAMILY 61 FROM THE FUNGUS CHRYSOSPORIUM LUCKNOWENSE AS A NEW COMPONENT OF THE ENZYME COMPLEX FOR THE BIOCONVERSION OF LIGNOCELLULOSIC BIOMASS
Proskurina O.V., Sinitsyn A.P.. 291

СИНТЕЗ БУТАНОЛА ШТАММОМ C. *ACETOBUTYLICUM* НА АЛЬТЕРНАТИВНЫХ СУБСТРАТАХ
Шульга С.М., Тигунова Е.А 292

SYNTHESIS OF BUTANOL STRAIN C. *ACETOBUTYLICUM* ON THE ALTERNATIVE SUBSTRATES
S. Shulga, O. Tigunova 292

ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ШТАММОВ-ПРОДУЦЕНТОВ АМИНОКИСЛОТ
Андрияш А.С., Заболотная Г.М., Шульга С.М. 293

OBTAINING THE HIGH-PRODUCING STRAINS OF AMINO ACIDS
Andriiash G., Zabolotnaya G., Shulga S.. 293

ОЧИСТКА ГАЗОВОЗДУШНЫХ ВЫБРОСОВ В ПРОЦЕССЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА
Приемов С.И., Шульга С.М. 294

CLEANING THE GAS EMISSIONS OF MICROBIOLOGICAL SYNTHESIS
Priyomov S., Shulga S. 295

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПЕРЕРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ
Смирнова В.Д., Червякова О.П., Шубукина Е.В., Кареткин Б.А., Шакир И.В., Панфилов В.И.. 295

INCREASE OF EFFICIENCY OF RAW MATERIALS PROCESSING
Smirnova V.D., Chervyakova O.P., Shubukina E.V., Karetkin B.A., Shakir, I.V., Panfilov V.I. 296

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК ИЗ БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОМАССЫ *METHYLOCOCCUS CAPSULATUS*
Тимошенко К.А., Красноштанова А.А. 296

INVESTIGATION OF THE PROCESS OF DNA EXTRACTION FROM BACTERIAL BIOMASS *METHYLOCOCCUS CAPSULATUS*
Timoshenko K.A., Krasnoshtanova A.A.. 297

ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНОВ С ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ЭКСПРЕССИЕЙ ПРИ ИНДУКЦИИ БИОСИНТЕЗА ЛАККАЗЫ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *TRAMETES HIRSUTA*
Васина Д.В., Логинов Д.С., Мустафаев О., Голденкова-Павлова И.В., Королева О.В. 298

IDENTIFICATION OF GENES WITH DIFFERENTIAL EXPRESSION UNDER INDUCTION OF LACCASE BIOSYNTHESIS IN WHITE-ROT FUNGI *TRAMETES HIRSUTA*.
D.V.Vasina, D.S.Loginov, O. Mustafaev, I.V. Goldenkova-Pavlova, O.V. Koroleva 298

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ПОЛУЧЕНИЕ БИОБУТАНОЛА НА ФЕРМЕНТАЛИЗАТАХ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ
Афонин А.В., Буторова И.А., **Давидов Е.Р.**, Молчан В.М., Давидов Е.Р. 299

BIOBUTANOL OBTAINING FROM ENZYMATIC TREATED PLANT MATERIALS
Afonin A.V., Butorova I.A., **Davidov E.R.**, Moltchan V.M. 300

СОРБЦИОННЫЕ МАТЕРИАЛЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЕ БУТАНОЛА ИЗ РАСТВОРОВ
Афонин А.В., Горшенев В.Н., Гарибян Ц.С., Диесперов К.В., Мельников В.П., Davidov E.R. 300

SORBENTS FOR BUTANOL SORPTION FROM SOLUTIONS
Afonin A.V., GorchenevV.N., GaribianTc.S., Diesperov K.V., Melnikov V.P. 301

ИЗМЕНЕНИЕ ДИНАМИКИ АКТИВНОСТИ ЭКЗОЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ ФЕРМЕНТОВ ASPERGILLUS TERREUS ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ
Аникина Н.А., Григорьева Е.Н., Кряжев Д.В., Смирнов В.Ф. 301

THE CHANGE OF THE DYNAMICS OF THE EXOCELLULAR ENZYMES ACTIVITY OF ASPERGILLUS TERREUS UNDER VARIOUS CULTIVATING CONDITIONS
Anikina N.A., Grigorieva E.N., Kryazhev D.V., Smirnov V.F. 301

ИЗМЕНЕНИЕ СТРУКТУРЫ КОМПЛЕКСА ПОЧВЕННЫХ БАКТЕРИЙ И ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ В ТЕХНОЛОГИИ ВЫРАЩИВАНИЯ КАРТОФЕЛЯ
Бородай В.В. 302

CHANGING THE STRUCTURE OF THE COMPLEX OF SOIL BACTERIA AND PHYTOPATHOGENIC FUNGI AT USING MICROBIAL PREPARATION IN THE GROWING TECHNOLOGY OF POTATO
Borodai V.V. 303

К ВОПРОСУ О СОХРАНЕНИИ МИКРОБНОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ
Ботина С.Г., Гагарина Е.Ю., Яшина В.Н. 303

TO A QUESTION OF PRESERVATION OF A MICROBIAL GENETIC VARIETY
Botina S.G., Gagarina E.Yu., Yashina V.N. 304

О ВОЗМОЖНОСТИ ИДЕНТИФИКАЦИИ АЦЕТИЛХОЛИНЭСТЕРАЗ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ ИСТОЧНИКОВ
Быковская Е.Ю., Жуковская В.А., Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е. 305

ABOUT POSSIBILITY OF THE IDENTIFICATION OF ACETYLCHOLINESTERASES FROM VARIOUS BIOLOGICAL SOURCES
Bykovskaya E.Yu., Zhukovskaya V.A., Zhukovskiy Yu.G., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E. 306

БУТИРИЛХОЛИНЭСТЕРАЗНЫЙ ГИДРОЛИЗ ДИТИОХОЛИНОВОГО ЭФИРА ПРОБКОВОЙ КИСЛОТЫ
Быковская Е.Ю., Жуковская В.А., Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е.Р., Сочилина Е.Е. 307

BUTYRYLCHOLINESTERASIC HYDROLYSIS OF THE DITHIOCHOLINIC ETHER OF THE PITH ACID
Bykovskaya E.Yu., Zhukovskaya V.A., Zhukovskiy Yu.G., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E. 307

ПРЯМОЕ ИЗМЕРЕНИЕ В СРЕДЕ РОСТА РАЗМЕРОВ И КОНЦЕНТРАЦИИ КЛЕТОК ЛЮБЫХ ТИПОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПОТОКА TAILOR-COUETTE
Бунин В.В. 308

DIRECT MEASUREMENT ON THE TAILOR-COUETTE FLOW THE SIZE OF CELLS AND ITS CONCENTRATION IN ANY CULTURE MEDIA
Bunin V.V.. 309

СОРБЦИОННОЕ ФРАКЦИОНИРОВАНИЕ ПРОДУКТОВ ЭНЗИМАТИЧЕСКОГО ГИДРОЛИЗА
Ефименко Н.В., Котова Н.В., Глазова Н.В. 309

SORPTION FRACTIONATION PRODUCTS OF ENZYMATIC HYDROLYSIS.
Efimenko N.V., Kotova N.V., Glasova N.V.. 310

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЭФФЕКТИВНЫХ СВЯЗУЮЩИХ ДОБАВОК К ГРУНТО-ЦЕМЕНТНЫМ СМЕСЯМ НА ОСНОВЕ МИКРОБНОЙ БИОМАССЫ
Градова Н.Б ., Шаранина Н.А 311

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY EFFECTIVE BINDER BASED ON MICROBIAL BIOMASS FOR GROUND-CEMENT MIXTURES
Gradova N.B., Sharanina N.A. 311

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИММОБИЛИЗОВАННЫХ АДАПТИРОВАННЫХ К СТРЕССУ ДРОЖЖЕЙ S*ACCHAROMYCES CEREVISIAE* В ПРОТОЧНОМ РЕЖИМЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭТАНОЛА
Хохлачев Н.С., Каленов С.В., Малютина О.В., О.С., Кузнецов А.Е. 312

THE USE OF IMMOBILIZED AND ADAPTED TO STRESS YEAST *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* IN A FLOW CULTIVATION FOR PRODUCTION OF ETHANOL
Khokhlatchev N.S., Kalyonov S.V., Malyutina O.V., Kuznetsov A.Ye. 313

БИОДЕСТРУКЦИЯ КОМПОЗИТОВ НА ОСНОВЕ ПЭНП С ДРЕВЕСНОЙ МУКОЙ И РАЗЛИЧНЫМИ КОМПАТИБИЛИЗАТОРАМИ В ПОЧВЕ.
Королева А.В., Луканина Ю.К., Хватов А.В., Попов А.А. 313

BIODEGRADATION OF LDPE-BASED COMPOSITES WITH WOOD FLOUR AND VARIOUS COMPATIBILIZERS IN THE SOIL
Koroleva AV., Lukanina JK, Khvatov AV, Popov AA 314

ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТОВ НАЗЕМНЫХ РАСТЕНИЙ НА РАЗМНОЖЕНИЕ ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК
Земков Г.В., Егоров М.А., Магзанова Д.К., Батаева Ю.В., Астафьева О.В., Баймухамбетова А.С. 314

INFLUENCE OF EXTRACTS OF LAND PLANTS ON REPRODUCTION OF BARMY CAGES
Zemkov G.V., Egorov M.A., Magzanova D.K., Batayeva Y.V., Astafyeva O.V., Baymukhambetova A.S. 315

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПОЛИЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ ИЗ ГЛИФОСАТА КИСЛОТЫ
Маллябаева Марина Ивановна, Ягафарова Гузель Габдулловна 316

WAY OF RECEIVING POLYETHYLENEGLYCOL FROM GLIFOSATS ACIDS
Mallyabaeva M.I., Yagafarova G.P.. 316

РАЗРАБОТКА ИММУНОБЛОТ-СИСТЕМЫ В КАЧЕСТВЕ ПОДТВЕРЖДАЮЩЕГО ТЕСТА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЦИТОМЕГАЛОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ
Некрасова Н.А., Косова Е.Ю., Данилюк Н.К., Гришаев М.П.. 317

THE DEVELOPMENT OF THE IMMUNOBLOT SYSTEM AS A CONFIRMATORY TEST FOR THE DIAGNOSTICS OF CYTOMEGALOVIRAL INFECTION
Nekrasova N.A., KosovaE.Yu., Danilyuk N.K., Grishaev M.P. 318

БИОДЕГРАДАЦИЯ ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ НА ОСНОВЕ ПОЛИЭТИЛЕНА И ЛИГНОЦЕЛЛЮЛОЗЫ ПОСЛЕ ВЫДЕРЖКИ В ГРУНТЕ
Пантюхов П.В., Колесникова Н.Н., Попов А.А. 318

BIODEGRADATION OF POLYMERIC COMPOSITE MATERIALS BASED ON POLYETHYLENE AND LIGNOCELLULOSE DURING THE INCUBATION IN THE SOIL
Pantyukhov P.V., Kolesnikova N.N., Popov A.A. 319

АВТОМАТИЗИРОВАННЫЙ ЛАБОРАТОРНЫЙ СТЕНД ДЛЯ ПРОВЕДЕНИЯ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ С ИМПУЛЬСНЫМИ РЕЖИМАМИ ОСВЕЩЕНИЯ
Бирюков В.В., Зубов Д.В., Макеев П.П., Мальцевская Н.В. 319

AUTOMATED TEST MACHINE FOR THE PROCESS OF MICROORGANISM CULTIVATION WITH INTERMITTENT ILLUMINATION
Biryukov V.V., Zubov D.V., Makeev P.P., Maltsevskaya N.V. 320

ИЗМЕЛЬЧЕНИЕ И АКТИВАЦИЯ ДРЕВЕСНЫХ ОПИЛОК В ПРОЦЕССЕ ПОЛУЧЕНИЯ САХАРОВ
Пашинин А.Е., Касицын Е.М., Никулин А.Е., Диесперов К.В., Акопян В.Б. 320

GRINDING AND ACTIVATION OF SAWDUST IN THE PROCESS OF SUGARS OBTAINING
Pashinin A.E., Kasitsyn E.M., Nikulin A.E., Diesperov K.V., Akopyan V.B. 321

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ИСТОЧНИКА УГЛЕРОДА В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ НА СИНТЕЗ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ ШТАММОМ БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА *TRAMETES HIRSUTA*
Русинова Т.В., Неманова Е.О., Шкурина Н.А., Горшина Е.С., Бирюков В.В. 321

INFLUENCE OF CARBON SOURCE CONCENTRATION ON SYNTHESIS OF OXIDATION ENZYMES BY WHITE-ROT FUNGI *TRAMETES HIRSUTA*
T.V.Rusinova, E.O. Nemanova, N.A. Shkurina., E.S. Gorshina, V.V. Biryukov. 322

ПОЛУЧЕНИЕ ГЛИКОПРОТЕИНА G (ВПГ1) В БАКУЛОВИРУСНОЙ ЭКСПРЕССИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЕ
Шеметова Е.Б., Юдина О.С., Кандрушина М.П., Данилюк Н.К., Гришаев М.П. 322

THE PRODUCTION OF GLYCOPROTEIN G (HSV1) IN THE BACULOVIRUS EXPRESSION SYSTEM
Shemetova E.B., Yudina O.S., Kandrushina M.P., Danilyuk N.K., Grishaev M.P. 323

БИОТЕХНОЛОГИЯ НОВОГО МОЛОЧНОГО ПРОДУКТА ПОЛИФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ НА ОСНОВЕ КИСЛОТНО-ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА
Скобелева Н.В., Седунова Г.Г., Скобелев М.М., Скобелев С.М., Мерзликина А.А., Рохмистрова Л.А. 324

BIOTECHNOLOGY OF NEW POLYFUNCTIONAL DAIRY PRODUCT BASED ON ACID-ENZYMATIC HYDROLYSIS
Skobeleva N.V., Sedunova G.G., Skobelev M.M., Skobelev S.M., Merzlikina A.A., Rohmistrova L.A. 324

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НОВОГО ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА ДЛЯ КОРМОПРОИЗВОДСТВА
Сверчкова Н.В., Заславская Н.С., Романовская Т.В., Коломиец Э.И., Михалюк А.Н., Каврус М.А.. 325

TECHNOLOGY OF MANUFACTURING AND APPLICATION OF A NEW PROBIOTIC PREPARATION FOR FORAGE PRODUCTION
Sverchkova N.V., Zaslavskaya N.S., Romanovskaya T.V., Kolomiets E.I., Michaluk A.N., Kavrus M.A. 326

РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОГО ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ПОДХОДА ДЛЯ КОНВЕРСИИ ОТХОДОВ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКТОВ ИЗ КАРТОФЕЛЯ В ТОПЛИВНЫЙ ЭТАНОЛ И ОБОГАЩЕННЫЙ КОРМ ДЛЯ СКОТА
Цурикова Н.В., Середа А.С., Костылева Е.В., Бугреева Н.С., Крашенинникова Т.К., Синицын А.Н., Синицын А.П. 326

DEVELOPMENT OF THE COMPLEX TECHNOLOGICAL APPROACH TO BYPRODUCTS OF POTATO PROCESSING CONVERSION INTO BIOETHANOL OR ENRICHED FODDER
Sereda A.S., Tsurikova N.V., Kostyleva E.V., Bugreeva N.S., Krasheninnikova T.K., Sinitsyn A.N., Sinitsyn A.P. 327

БИОИНЖЕНЕРНЫЕ АСПЕКТЫ ИНТЕНСИФИКАЦИИ ПРОЦЕССА БИОСИНТЕЗА ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ
Винаров А.Ю., Соколов Д.П., Смирнов В.Н.. 327

BIOENGINEERED ASPECTS INTENSIFY THE PROCESS OF BIOSYNTHESIS OF CITRIC ACID
Vinarov A. Sokolov, D, Smirnov V 328

МИКРООРГАНИЗМЫ-КАТАЛИЗАТОРЫ ПРОМЫШЛЕННОЙ БИОКОНВЕРСИИ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ ДРЕВЕСИНЫ В КОРМОВЫЕ БЕЛКОВЫЕ ПРОДУКТЫ
Воробьева Г.И., Заикина А.И., Сычев А.Е., Ковальский Ю.В., Шай Хенг Кех, Ступин А.Ю., Акопян В.Б. 329

INDUSTRIAL BIOCONVERSION OF WOOD WASTE INTO FEED-RICH PROTEINS BY USING MICROBIAL CONSORTIUM
Vorobieva G.I., Zaikina A.I., Sitchev A.I., Kovalsky Yu.V., Chai Heng Keh, Stupin A.Yu., Akopyan V.B. 330

ОСОБЕННОСТИ ВЛИЯНИЯ ТЕТРААЛКИЛАММОНИЙНЫХ ИОНОВ НА ХОЛИНЭСТЕРАЗЫ СЫВОРОТКИ КРОВИ ПТИЦ В РЕАКЦИЯХ ГИДРОЛИЗА АЦЕТИЛТИОХОЛИНА
Жуковский Ю.Г., Кузнецова Л.П., Никитина Е .Р., Сочилина Е.Е. 330

THE FEATURES INFLUENCE OF TETRAALKYLAMMONIUM IONS ON THE BIRDS BLOOD SERUM CHOLINESTERASE IN THE HYDROLYSIS OF ACETYLTHIOCHOLINE
Zhukovskij Yu.G., Kuznetsova L.P., Nikitina E.R., Sochilina E.E. 331

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ КЛАСТЕРЫ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПЛАТФОРМЫ»
SECTION “BIOTECHNOLOGY CLUSTERS AND TECHNOGY PLATFORMS”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

СОВРЕМЕННЫЕ МЕЖДУНАРОДНЫЕ ТЕНДЕНЦИИ И ПРОБЛЕМЫ БИОБЕЗОПАСНОСТИ И БИООХРАНЫ В БИОМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ
Нетёсов С.В. 333

CURRENT INTERNATIONAL TRENDS IN BIOSAFETY AND BIOSECURITY IN BIOMEDICAL RESEARCH
Netesov S.V. 333

ПРОБЛЕМЫ БИОБЕЗОПАСНОСТИ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ И ЭКОЛОГИИ – АНАЛИЗ РИСКОВ BIOLOGICAL SECURITY PROBLEMS IN AGRICULTURE AND ECOLOGY – ANALYSIS OF THE RISKS ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ БИОБЕЗОПАСНОСТИ (ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ) ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ТРАНСГЕННЫХ КУЛЬТУР
Др. Николас Сторер. 335

PRACTICAL ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT OF TRANSGENIC CROPS
Dr. Nicholas Storer 335

НЕОБХОДИМОСТЬ МУЛЬТИ МОДАЛЬНЫХ И МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ИЗМЕРИТЕЛЬНЫХ СИСТЕМ В ИССЛЕДОВАНИЯХ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ И МАТРИЧНЫЙ АНАЛИЗ
Dr. L. Bachdasarian; R. Bulthuis; E. Molenwijk; S. Zhuchkov 336

THE NEED FOR MULTI-MODAL AND MULTI-FUNCTIONAL MEASUREMENT SYSTEMS IN LABORATORY ANIMAL RESEARCH AND MATRIX ANALYSIS
Dr.L.Bachdasarian; R.Bulthuis;E. Molenwijk; S. Zhuchkov 337

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В ДИАГНОСТИКЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА
БойкоН. В. 338

MICROBIOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL MARKERS IN DIAGNOSTIC OF HUMAN METABOLIC DISEASES
NadiyaV. Boyko 339

ТЕХНОЛОГИИ ПИЩЕВОЙ И ПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ АПК – ПРОДУКТЫ ЗДОРОВОГО ПИТАНИЯ
Чертов Е.Д. 340

TECHNOLOGIES FOR THE FOOD PROCESSING INDUSTRY APC – HEALTHY FOOD
Eugene D. Chertov 341

КЛАСТЕРНЫЙ ПОДХОД К СОЗДАНИЮ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ
Петров В.И., Новиков М.С., Луганченко А.И., Озеров А.А.. 341

CLUSTER APPROACH TO THE DEVELOPMENT OF BIOTECHNOLOGY MEDICINES
Petrov V.I., Novikov M.S., Luganchenko A.I., Ozerov A.A. 342

ВИХРЕВЫЕ БИОРЕАКТОРЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ-ОДИН ИЗ ЭФФЕКТИВНЫХ ИНСТРУМЕНТОВ РАЗВИТИЯ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СОСТАВЛЯЮЩЕЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ КЛАСТЕРОВ
Рамазанов Ю.А.. 342

VORTEX BIOREACTORS OF THE NEW GENERATION AS ONE OF EFFECTIVE TOOLS TO DEVELOP THE INDUSTRIAL COMPONENT OF BIOTECHNOLOGICAL CLUSTERS
Ramazanov YA 343

ВОЗРОЖДЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ НА ВЯТСКОЙ ЗЕМЛЕ
ООО Восток. 344

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ИННОВАЦИОННЫЕ ИНСТРУМЕНТЫ ДЛЯ ПОДГОТОВКИ И РЕШЕНИЯ НАУЧНЫХ БИЗНЕС-ИДЕЙ
Урва Т.Э., Чупахина Н.Ю., Скрыпник Л.Н., Полтавская Р.Л., Чупахина Г.Н. 345

INNOVATIVE TOOLS AND SOLUTIONS FOR TRAINING THE SCIENTIFIC BUSINESS IDEAS
Urva T., Tchupakhina N., Skrypnik L., Poltavskaya R., Tchupakhina G. 346

СЕКЦИЯ «БИОТЕХНОЛОГИЯ В СЕЛЬСКОМ И ЛЕСНОМ ХОЗЯЙСТВАХ»
SECTION "BIOTECHNOLOGY IN THE AGRICULTURE AND FORESTY"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЙ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ ДЛЯ ЗАЩИТЫ РАСТЕНИЙ ОТ ЭКОНОМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ
Надыкта В.Д., Исмаилов В.Я., Асатурова А.М.. 347

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGIES OF RECEIVING AND APPLICATION OF BIOPREPARATIONSFOR PLANTS PROTECTION AGAINST ECONOMICALLY IMPORTANT PATHOGENS
V.D. Nadykta, V.J. Ismailov, A.M. Asaturova 347

СПОСОБЫ СНИЖЕНИЯ СТРЕССОВЫХ ВОЗДЕЙСТВИЙ НА ФИТО- И МИКРОБИОЦЕНОЗЫ
Боме Н.А., Дударева И.А., Боме А.Я.. 348

WAYS TO REDUCE STRESS ON THE PHYTO- AND MICROBIOCENOSES
Bome N.A., Dudareva I.A., Bome A.Y.. 349

О ПРИЗНАКЕ ВЫСОКИХ АДАПТИВНЫХ СВОЙСТВ ИНДУЦИРОВАННЫХ СУПЕРМУТАГЕНОМ ЭТИЛЕНИМИНОМ У ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ
Эйгес Н.С.Волченко Г.А.Волченко С.Г. 349

ABOUT A SIGN OF HIGH ADAPTIVE PROPERTIES INDUCED BY A SUPERMUTAGEN ETHYLENIMINE ON WINTER WHEAT
Eiges N.S.Volchenko G.A.Volchenko S.G. 350

ИЗУЧЕНИЕ МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ ПЕРВИЧНЫХ ЭКСПЛАНТОВ ОЗИМОГО РАПСА (BRASSICA NAPUS L.) В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*
Кляченко О.Л., Никифорова Н.В., Шофолов А.Л.. 351

THE STUDY OF MORPHOGENETIC FEATURES OF PRIMARY EXPLANTS OF WINTER RAPE (BRASSICA NAPUS L.) *IN VITRO*
Klyachenko O.L., Nikiforova N.V., Shofolov A.L. 351

БИОТЕХНОЛОГИЯ И ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПО БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ РАСТЕНИЙ
Лутова Л.А. 352

BIOTECHNOLOGY AND FUNDAMENTAL RESEARCH ON THE PLANT DEVELOPMENTAL GENETICS
L.A. Lutova, Professor 353

ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ, ГОМОЛОГИЧНЫЕ Т-ДНК *AGROBACTERIUMRHIZOGENES*, В ГЕНОМАХ РАСТЕНИЙ РОДА *LINARIA*
Матвеева Т.В., Богомаз Д.И., Павлова О.А., Лутова Л.А. 354

SEQUENCES HOMOLOGOUS TO *AGROBACTERIUMRHIZOGENES*, IN THE GENOMES OF *LINARIA*PLANTS
Matveeva T.V., BogomazD.I., Pavlova O.A., LutovaL.A. 354

ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ В РЕСПУБЛИКЕ САХА (ЯКУТИЯ)
Неустроев М.П. 355

ACHIEVEMENTS AND PROSPECTS OF VETERINARY BIOTECHNOLOGY IN THE REPUBLIC OF SAKHA (YAKUTIA)
Neustroev M.P. 356

РЕЗУЛЬТАТЫ БИОКОНВЕРСИИ ОТХОДОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА МЕТОДОМ ГЛУБИННОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ
Павловская Н.Е., Горькова И.В., Солохина И.Ю., Дедков В.Н., Гагарина И.Н.. 357

RESULTS OF BIOCONVERSION OF WASTE OF AGRICULTURAL PRODUCTION METHOD OF A DEEP FERMENTATION
Pavlovskay N.E., Gorkova I.V., Solokhina I. Yu, Dedkov V.N., Gagarina I.N. 357

РАЗРАБОТКА НОВЫХ СЕРИЙ БИОПРЕПАРАТА РИЗОВИТ-АКС ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯУРОЖАЙНОСТИ БОБОВЫХ КУЛЬТУР И ПЛОДОРОДИЯ ПОЧВ В КАЗАХСТАНЕ
Саданов А.К., Айткельдиева С.А., Байгонусова Ж.А., Таубекова Г.К., Усикбаева М.А., Ултанбекова Г.Д. 358

DEVELOPMENT OF NEW SERIES OF BIOLOGICAL PRODUCT RIZOVIT-AKS TO INCREASE YIELD OF LEGUMINOUS CROPS AND SOIL FERTILITY IN KAZAKHSTAN
Sadanov A.K.,Aitkeldieva S.A., Baigonusova G.A., Taubekova G.K., Usikbaeva M.A., Ultanbekova G.D. 358

СТИМУЛЯЦИЯ РОСТА ЛЕСНОГО ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА С ОТКРЫТОЙ КОРНЕВОЙ СИСТЕМОЙ АЗОТФИКСИРУЮЩИМИ И ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИМИ РИЗОБАКТЕРИЯМИ
Сафронова Г.В., Алещенкова З.М., Мельникова Н.В., Падутов В.Е., Острикова М.Я. 359

GROWTH STIMULATION OF AFFORESTATION STOCK WITH OPEN ROOT SYSTEM BY NITROGEN- FIXING AND PHOSPHATE-MOBILIZING RHIZOBACTERIA
Safronova H.V., Aleschenkova Z.M., Melnikova N.V., Padutov V.E., Ostrikova M.Y. 360

НОВЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА СТРУКТУРЫ МЕТАГЕНОМА ДЛЯ МОНИТОРИНГА АГРОЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ПОЧВ
Першина Е.В., Андронов Е.Е., Дольник А.С., Тамазян Г.С., Проворов Н.А. 360

NEW METHODS FOR THE ANALYSIS OF SOIL METAGENOME TO MONITOR SOIL AGROECOLOGICAL PROPERTIES
Pershina E.V., Andronov E.E., Dolnik A.S., Tamazyan G.S., Provorov N.A. 361

НАДВИДОВЫЕ ГЕНЕТИЧЕСКИЕ СИСТЕМЫ
Проворов Н.А., Тихонович И.А. 362

SUPER-SPECIES GENETIC SYSTEMS
Provorov N.A., Tikhonovich I.A. 363

МОЗАИЧНОСТЬ ГЕНОМА АЛЬФА-ПРОТЕОБАКТЕРИЙ
Белова-Мунтян В.С., Симаров Б.В., Румянцева М.Л. 363

GENOME STRUCTURE MOSAICS OF ALFA-PROTEOBACTERIA
Belova-Muntyan V.S., Simarov B.V., Roumiantseva M.L. 364

РОЛЬ ЗНАНИЙ И СОВРЕМЕННЫХ СРЕДСТВ В ПОВЫШЕНИИ ЭФФЕКТИВНОСТИ БИОТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ АПК
Самуйленко А.Я. 364

ПРАКТИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ОЦЕНКЕ БИОБЕЗОПАСНОСТИ ТРАНСГЕННЫХ КУЛЬТУР
Др. Николас Сторер. 366

APPROACHES TO ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT FOR CULTIVATION OF TRANSGENIC CROPS
Dr. Nicholas Storer 366

РАСТЕНИЯ – ПРОДУЦЕНТЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ
Емельянов В.В., Савельева Н.В., Бурлаковский М.С., Гусева О.В., Ткаченко А.А., Лутова Л.А. 366

PLANTS – PRODUCERS OF PHARMACOLOGICAL PROTEINS
Yemelyanov V.V., Savelyeva N.V., Burlakovskiy M.S., Guseva O.V., Tkachenko A.A., Lutova L.A.. 367

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ В СИМБИОТИЧЕСКОЙ ГЕНЕТИКЕ БОБОВЫХ РАСТЕНИЙ
Жуков В.А., Жернаков А.И., Титов В.С., Сулима А.С., Федорина Я.В., Штарк О.Ю., Борисов А.Ю., Тихонович И.А. 368

MODERN METHODS IN SYMBIOTIC GENETICS OF LEGUME PLANTS
Zhukov V.A., Zhernakov A.I., Titov V.S., Sulima A.S., Fedorina J.V., Shtark O.Y., Borisov A.Y., Tikhonovich I.A.. 368

ФЕРМЕНТНЫЕ ПРЕПАРАТЫ НОВОГО ПОКОЛЕНИЯ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПИТАТЕЛЬНОЙ ЦЕННОСТИ КОРМОВ, СОДЕРЖАЩИХ РАСТИТЕЛЬНЫЕ ИСТОЧНИКИ БЕЛКА
ООО Восток. 369

ПОСТЕРЫ
POSTERS

ЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ ПРЕПАРАТА МЕЛАФЕН НА МИТОХОНДРИИ ПРОРОСТКОВ ГОРОХА ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ХОЛОДА И ЗАСУХИ
Албантова А.А., Миль Е.М., Бинюков В.И., Жигачева И.В.. 370

THE PROTECTIVE EFFECT OF MELAPHEN ON MITOCHONDRIA PEA SEEDLING DURING EXPOSURE TO COLD AND DROUGHT
Albantova A.A., Mil E.M., Binjukov V.I., Zhigacheva. I.V. 370

СВОЙСТВА САЙТОВ СВЯЗЫВАНИЯ СЕМЕЙСТВА MIR396 С MRNA СЕМЕЙСТВ ГЕНОВ РОСТ РЕГУЛИРУЮЩЕГО ФАКТОРА РАСТЕНИЙ
Бари А.А., Оразова С.Б., Иващенко А.Т. 371

PROPERTIES OF MIR396 BINDING SITES IN MRNA OF GROWTH REGULATORY GENES FAMILY IN PLANTS
Bari A.A., Orazova S.B., Ivashchenko A.T.. 372

РОЛЬ ЦИАНОБАКТЕРИЙ В АГРОТЕХНОЛОГИЯХ АСТРАХАНСКОГО РЕГИОНА
Батаева Ю.В. 372

ROLE OF CYANOBACTERIA IN AGROTECHNOLOGY OF THE ASTRAKHAN REGION
Bataeva Y.V. 373

ИЗУЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ ГЕНА *NHX1 SALICORNIAEUROPEA*
Богомаз Д.И., Кудрявцев Г.К., Матвеева Т.В., Лутова Л.А.. 373

INVESTIGATION OF STRUCTURE OF *NHX1* GENE OF *SALICORNIAEUROPEA*
Bogomaz D.I., Kudryavtsev G.K., Matveeva T.V., Lutova L.A. 374

ВВЕДЕНИЕ ДИКОРАСТУЩЕГО КАУЧУКОНОСНОГО РАСТЕНИЯ ТАУ-САГЫЗ (*SCORZONERA TAU-SAGHYZ LIPSCH. ET BOSSE*) В КУЛЬТУРУ *IN VITRO*
Богуспаев К.К., Турашева С.К., Фалеев Д.Г., Амангуль, Аксамбаева А.С. 375

INTRODUCTION OF WILD RUBBER PLANTS TAU SAGHYZ (SCORZONERA TAU-SAGHYZ LIPSCH. ET BOSSE) *IN VITRO* CULTURE
Boguspaev K.K., Turasheva S.K., Faleev D.G., Amangul, Aksambayeva A.S. 375

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО РАЗМНОЖЕНИЮ ЭВКАЛИПТА
Бредун Н.А., Харута Л.Г. 376

ВЛИЯНИЕ АНТРОПОГЕННЫХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ НА РАСТЕНИЯ, КОЛОНИЗИРОВАННЫЕ ПОЧВЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ
Пиголева С.В., Федорова Н., Чепурнова М.А., Тарасова П.В., Захарченко Н.С. 377

INFLUENCE OF ANTHROPOGENIC STRESSORS ON PLANTS COLONIZED BY SOIL MICROORGANISMS
Pigoleva S.V., Fedorova N., Chepurnova M.A., Tarasova P.V., Zakcharchenko N.S.. 377

МИКРОРАЗМНОЖЕНИЕ ВАЖНОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО И ОРНАМЕНТАЛЬНОГО РОЗЕТОЧНОГО РАСТЕНИЯ YUCCA ALOEFOLIA
Чакрян Г.Г., Рыбалко АЕ. 378

ИЗУЧЕНИЕ УСЛОВИЙ ПОЛУЧЕНИЯ КАЛЛУСНЫХ КУЛЬТУР ТРЕХ ВИДОВ МУСКАРИ
Рыбалко А.А. 378

ФРАГМЕНТЫ МОБИЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ РАСТЕНИЙ В ГЕНОМАХ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ
Елькина М.А., Глазко В,И. 379

FRAGMENTS OF PLANT MOBILE ELEMENTS IN THE GENOMES OF FARM ANIMALS
Elkina M.A., Glazko V.I.. 380

РАЗРАБОТКА ЭКСПРЕССНЫХ МУЛЬТИПАРАМЕТРИЧЕСКИХ ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ТЕСТ-СИСТЕМ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ПАТОГЕНОВ КАРТОФЕЛЯ
Емельянова Г.К., Сафенкова И.В., Варицев Ю.А., Жердев А.В., Венгеров Ю.Ю., Дзантиев Б.Б.. 380

DEVELOPMENT OF EXPRESS MULTIPARAMETRIC IMMUNOCHROMATOGRAPHIC TEST-SYSTEMS FOR THE DETECTION OF POTATO PATHOGENS
Emelyanova G.K., Safenkova I.V., Varitsev Y.A., Zherdev A.V., Vengerov Y.Y., Dzantiev B.B. 381

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНОГО ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ЧЕЧЕВИЦЫ И ЕГО МЕЧЕННЫХ СТАБИЛЬНЫМИ ИЗОТОПАМИ АНАЛОГОВ
Финкина Е.И., Ланина П.А., Богданов И.В., Мельникова Д.Н., Баландин С.В., Овчинникова Т.В. 382

BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTION AND STABLE ISOTOPES LABELING OF THE RECOMBINANT LENTIL LIPID TRANSFER PROTEIN
Finkina E.I., Lanina P.A., Bogdanov I.V., Melnikova D.N., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V.. . .382

МИКРОКУЛЬТУРА ДВУХ ВИДОВ МЕЛКОЛУКОВИЧНОГО РАСТЕНИЯ ЗЕФИРАНТЕС
Гонева Ю., Рыбалко А.Е.. 383

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ПИЩЕВОГО, ЛЕКАРСТВЕННОГО И ОРНАМЕНТАЛЬНОГО РАСТЕНИЯ NEPETA CATARIA L.
Губаз С.Л. 384

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ CENTAURIUM ERITHRAEA
Гварамия Н., Рыбалко А.А.. 384

ПОЧВЕННЫЕ СТРЕПТОМИЦЕТЫ – ПРОДУЦЕНТЫ БАВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОПРЕПАРАТОВ ФИТОЗАЩИТНОГО ДЕЙСТВИЯ
Иутинская Г.А., Белявская Л.А., Козырицкая В.Е., Матюша Т.В. 385

SOIL STREPTOMYCETES AS PRODUCERS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES FOR CREATING BIOPREPARATION WITH PHYTOPROTECTIVE EFFECT
Iutynskaya G.A., Belyavskaya L.A., Kozyritskaya V.E., Matyusha T.V. 386

ОПТИМИЗАЦИЯ БИОСИНТЕЗА ИНДОЛИЛ-3-УКСУСНОЙ КИСЛОТЫ И ГИББЕРЕЛЛИНОВ ТЕРМОТОЛЕРАНТНЫМ ШТАММОМ ASPERGILLUS TERREUS 8
Хамидова Х.М., Паттаева М.А., Хамидов Д.М.. 386

OPTIMIZATION OF BIOSYNTHESIS OF INDOLE-3-ACETIC ACID AND GIBBERELLINS BY THERMOTOLERANT STRAIN OF ASPERGILLUS TERREUS 8
Khamidova Kh. M., Pattaeva M.A., Khamidov D.M. 387

МОДУЛЬНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МОРФОГЕННЫХ ЗОН В КАЛЛУСНОЙ КУЛЬТУРЕ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ &(BETA VULGARIS L.)
Кляченко О.Л., Лиханов А.Ф., Крыловская С.А.. 388

MODULE ORGANIZATION OF MORPHOGENETIC ZONES IN A SUGAR BEET (*BETA VULGARIS* L.) CALLUS CULTURE
Klyachenko O.L., Likhanov A.F., Krylovskaya S.A. 388

РАЗРАБОТКА МЕТОДА МОЛЕКУЛЯРНОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ АЛЬТЕРНАРИОЗА КАРТОФЕЛЯ И ТОМАТА
Кокаева Л.Ю., Березов Ю.И.. 389

DEVELOPMENT OF MOLECULAR IDENTIFICATION METHOD OF EARLY BLIGHT PATHOGENS OF POTATO AND TOMATO
Kokaeva L.Yu., Berezov Yu.I 390

ПОЛУЧЕНИЕ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ПРИ ПРЯМОМ ПЕРЕНОСЕ КОМПЛЕКСОВ ООЦИТ-КУМУЛЮС ИЗ СРЕДЫ ДОЗРЕВАНИЯ В СРЕДУ ОПЛОДОТВОРЕНИЯ
Маленко Г.П., Черненко Е.Ю., Корниенко Е.В. 390

IN VITRO PRODUCTION OF BOVINE EMBRYOS USING DIRECT TRANSFER OF THE CUMULUS-OOCYTE COMPLEXES FROM THE MATURATION MEDIUM INTO THE FERTILIZATION MEDIUM
G.P. Malenko, E.Yu. Chernenko, E.V. Kornienko 391

ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ И СВОЙСТВ ГЕЛЕЙ НА ОСНОВЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕКТИНОВЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ НОВЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ БИОМАТЕРИАЛОВ
Дурнев Е.А., Литвинец С.Г., Злобин А.А., Мартинсон Е.А. 392

INVESTIGATION OF THE STRUCTURE AND PROPERTIES OF GELS BASED ON PHYSIOLOGICALLY ACTIVE PECTIC POLYSACCHARIDES FOR THE DEVELOPMENT OF NEW FUNCTIONAL BIOMATERIALS
Durnev E.A., Litvinets S.G., Zlobin A.A., Martinson E.A. 393

МИКРОКЛОНАЛЬНОЕ РАЗМНОЖЕНИЕ РЕДКОГО РАСТЕНИЯ PRIMULA KOMAROVII LOSINSK
Мумджян А.С., Рыбалко А.Е. 393

ВВЕДЕНИЕ В КУЛЬТУРУ _IN VITRO_ ИСЧЕЗАЮЩЕГО РАСТЕНИЯ _PANCRATIUM MARITIMUM L._
Павлова Л.Е., Рыбалко А.Е. 394

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СПЕРМИЕВ ЦЕННЫХ ВИДОВ РЫБ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ КРИОКОНСЕРВАЦИИ
Почевалова Т.И., Назарова А.Р. 394

CYTOLOGICAL CHANGES SPERM OF VALUABLE SPECIES OF FISH DEPENDING ON THE CONDITIONS OF CRYOPRESERVATION
Pochevalova T.I., Nazarova A.R.. 395

ИЗУЧЕНИЕ ПРОДУКЦИИ ЛАККАЗЫ ШТАММОМ FUNALIA TROGII ТИ 035 НА СРЕДАХ РАЗЛИЧНОГО СОСТАВА
Клепиков А.А., Стерляжникова О.В., Шамцян М.М. 396

THE STUDY OF LACCASE PRODUCTION STRAIN FUNALIA TROGII TI 035 IN MEDIA OF DIFFERENT COMPOSITION
Klepikov A.A., Sterlyazhnikova O.V., Shamtsyan M.M. 396

ГВОЗДИКА ИМЕРЕТИНСКАЯ – ЛЕКАРСТВЕННОЕ И ОРНАМЕНТАЛЬНОЕ РАСТЕНИЕ СОЧИНСКОГО ПРИЧЕРНОМОРЬЯ И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ
Тешева Д., Рыбалко А.А. 397

РОСТ И РАЗВИТИЕ PSEUDOMONAS FLUORESCENS В МИНЕРАЛОВАТНОМ СУБСТРАТЕ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ ОВОЩЕЙ В ЗАЩИЩЕННОМ ГРУНТЕ
Титова Д.Г., Ефимова М.С., Дмитриева Е.Н., Марквичев Н.С.. 397

THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF PSEUDOMONAS FLUORESCENS AT THE MINERAL WOOL SUBSTRATE FOR CULTIVATION OF VEGETABLES IN THE PROTECTED GROUND
D.G.Titova, M.S.Efimova, E.N.Dmitrieva, N.S.Markvichev 398

МОДЕЛИРОВАНИЕ РАСТИТЕЛЬНО-МИКРОБНЫХ АССОЦИАЦИЙ В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO*
Ткаченко О.В., Евсеева Н.В., Бойкова Н.В., Дмитриенко В.В., Матора Л.Ю., Бурыгин Г.Л., Лобачев Ю.В., Щеголев С.Ю. 399

MODELING PLANT-MICROBE ASSOCIATIONS IN A CULTURE *IN VITRO*
Tkachenko O.V., Evseeva N.V., Boikova N.V., Dmitrienko V.V., Matora L.Yu., BuryginG.L., Lobachev Yu.V., Shchyogolev S.Yu. 400

СТРУКТУРНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КРАХМАЛОВ, ЭКСТРАГИРОВАННЫХ ИЗ МИКРОКЛУБНЕЙ КАРТОФЕЛЯ, ПОДВЕРГНУТЫХ ВОЗДЕЙСТВИЮ ФИТОГОРМОНОВ И *ROL* ТРАНСГЕНОВ
Вассерман Л.А., Плащина И.Г., Константинова Т.Н., Голяновская С.А., Аксенова Н.П., Сергеева Л.И., Романов Г.А. 400

STRUCTURAL CHARACTERISTIC OF STARCHES EXTRATED FROM MICROTUBERS OF POTATO HARBORING DIFFERENT PHYTOHORMONES AND *ROL* TRANSGENES
L.A. Wasserman, I.G. Plashchina, T.N. Konstantinova, S.A. Golyanovskaya, N.P. AKSenova, L.I. SERgeeva, G.A. ROManov 401

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РОСТ БИОМАССЫ АСПЕРГИЛЛЫ НИГЕР (ASPERGILLUSNIGER)
ДжавадЧери 402

FACTORSAFFECTINGTHEGROWTH OF BIOMASS OF ASPERGILLUS NIGER
Javad Chehri 403

ВЛИЯНИЕ ДОЗ ЦИТОКИНИНОВ НА КОЭФФИЦИЕНТ РАЗМНОЖЕНИЯ ОРНАМЕНТАЛЬНОГО И ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТЕНИЯ LYSIMACHIA VULGARIS L.
Загороднюк Е.Д., Рыбалко А.А. 404

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

О СОСТАВЕ МАРКЕРНЫХ БЕЛКОВ И МАСЛИЧНОСТИ НЕКОТРЫХ СОРТОВ ГЕРМОПЛАЗМЫ ХЛОПЧАТНИКА
Абдуразакова З.Л., Абдуразаков. А.А. 405

ABOUT COMPOUND OF PROTEIN MARKERS AND OIL CONTENT OF SEVERAL VARIETIES OF COTTON PLANT GERMPLASM
Abdurazakova Z.L., Abdurazakov A.A.. 406

СИСТЕМА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ СИНТЕЗА СТЕРИНОВ У КАРТОФЕЛЯ
Андреева Е.А., Сухоруков В.Н., Лутова Л.А. 406

SYSTEM FOR DETECTION OF POTATO STEROL GENES EXPRESSION LEVEL
Andreeva E.A., Sukhorukov V.N., Lutova L.A.. 407

ВЫДЕЛЕНИЕ НОВЫХ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ ШТАММОВ ЦИАНОБАКТЕРИЙ
Баймаханова Г.Б., Ораз Г. 407

ISOLATION OF NEW NITROGEN-FIXING STRAINS OF CYANOBACTERIA
Baimakhanova G.B., Oraz G. 408

PHYLOGENETIC RELATIONSHIP OF *COCHLODINIUM POLYKRIKOIDES* USING 18S RIBOSOMAL RNA GENE SEQUENCES FROM PERSIAN GULF
Raheem Haddad, Esmat Alemzadeh, Ramin Hosseini, Alireza Ahmadi, Eesa Abdolaliyan 409

EFFECT OF POLYETHYLENE GLYCOL INDUCED WATER STRESS ON HULL-LESS BARLEY LINES (*HORDEUM VULGARE* L.)
Raheem Haddad and Soghra Asgari Avini 409

INCREASING TOLERANCE AGAINST DROUGHT STRESS IN TWO GENOTYPES OF RICE BY SILICON
Raheem Haddad, Fatemeh Biglary, Ramin Hosseini, Abbas Sotoodehnia 410

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНТРОГРЕССИИ ЧУЖЕРОДНЫХ ГЕНОВ В СЕЛЕКЦИИ САХАРНОЙ СВЁКЛЫ (*BETA VULGARIS L.*)
Богомолов М.А.. 410

USE OF ALIEN GENE INTROGRESSION IN SUGAR BEET (*BETA VULGARIS L.*) BREEDING
Bogomolov M.A. 411

НОВАЯ МИКРОБНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ ХЛОПЧАТНИКА НА ЗАСОЛЕННЫХ ПОЧВАХ
Джуманиязова Г.И., Нарбаева Х.С., Бабина А.Е., Зарипов Р.Н. 412

NEW MICROBIAL BIOTECHNOLOGY INCREASING PRODUCTIVITY OF COTTON ON SALINE SOIL
Djumaniyazova G.I., Narbaeva Ch.S, Babina A.E., Zaripov R.N. 412

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ СОЛЕУСТОЙЧИВЫХ РИЗОБАКТЕРИЙ ОЗИМОЙ ПШЕНИЦЫ
Джуманиязова Г.И., Нарбаева Х.С., Бабина А.Е., Закирьяева С.И.,Каландаров Т. 413

PHYSIOLOGICAL ACTIVITY SALT TOLERANT RHIZOBACTERIA WINTER WHEAT
Djumaniyazova G.I., Narbaeva Ch.S, Babina A.E., Zakiryaeva S.I., Kalandarov T. 413

STUDY THE EFFECT OF THE PEG (6000) PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO BARLEY (*HORDEUM DISTICUM*) ADVANCED LINES UNDER DROUGHT STRESS
Raheem Haddad and Masume Ghadami 414

SOME TERPENOID COMPOUNDS OF DIFFERENT PARTS OF *CUMINUM CYMINUM* L
Raheem Haddad, Maryam Ghannadnia, Fatemeh Zarinkamar, Mozafar Sharifi. 415

LIMONENE SYNTHASE GENE EXPRESSION ON DIFFERENT PARTS OF *CUMINUM CYMINUM* L
Raheem Haddad, Maryam Ghannadnia, Fatemeh Zarinkamar, Mozafar Sharifi. 415

EVALUATION OF PRETREATMENT POLYETHYLENE GLYCOL IN TWO DEVELOPMENT LINES OF DURUM WHEAT UNDER DROUGHT STRESS
Zahra Karimlou, Raheem Haddad, Abdolali Gaffari 416

ИСЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ПАРАМЕТРОВ АГРОНОМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ПЛОДОРОДИЯ ЗАСОЛЕННОЙ ПОЧВЫ ПОД КУЛЬТУРОЙ РИСА
Идрисова У.Р., Мусалдинов Т.Б., Идрисова Д.Ж., Айткельдиева С.А., Байгонусова Ж.А., Аипова Р., Ауэзова О.Н., Курманбаев А.А., Мырзадаулетова И.Т., Саданов А.К. 416

RESEARCH OF BIOLOGICAL ACTIVITY AND PARAMETERS OF AGRONOMIC CHARACTERISTICS OF SALINE SOIL FERTILITY UNDER RICE CROP
Idrisova U.R., Musaldinov T.B., Idrisova D.Zh.., Aytkeldieva S.A., Baygonusova Zh.A, Aipova R, Auezova O.N., Kurmanbaev A.A., Myrzadauletova I.T., Sadanov A.K. 417

ПОЛУЧЕНИЕ КУЛЬТУР РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ МИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ И СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИХ ВЛИЯНИЯ НА РОСТ РАСТЕНИЙ
Касымбеков Б.К., Фалеев Д.Г., Джокебаева С.А., Ташенова А.А., Оразова С.Б. 417

OBTAINING CULTURES OF VARIOUS TYPES OF MYCORHIZAL FUNGI AND A COMPARATIVE ANALYSIS OF THEIR EFFECTS ON PLANT GROWTH
Kasymbekov B.K., Faleev D.G., Dzhokebaeva S.A., Tashenov A.A., Orazova S.B. 418

ПОЛУЧЕНИЕ ГИДРОЛИЗАТОВ СОЛОМЫ И ОТРУБЕЙ ДЛЯ АЭРОБНЫХ ПРОЦЕССОВ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА
Харина М.В., Нуртдинов Р.М., Валеева Р.Т., Мухачев С.Г., Емельянов В.М. 419

OBTAINING HYDROLYSATES OF STRAW AND MILL OFFALS FOR AEROBIC PROCESSES OF MICROBIOLOGICAL SYNTHESIS
Kharina M.V., Nurtdinov R.M., Valeeva R.T., Mukhachev S.G., Emelyanov V.M. 419

АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛЕСНЫХ И ЛУГОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ
Козлова З.Г. 420

ANTIOXIDANTIVE ACTIVITY OF FOREST AND MEADOW MEDICINAL HERBS
Kozlova Z.G. 421

НАСЕКОМЫЕ – ПЕРСПЕКТИВНЫЕ ПРОДУЦЕНТЫ ВОЗОБНОВЛЯЕМОГО ОРГАНИЧЕСКОГО СЫРЬЯ
Мадьяров Ш.Р. 421

THE INSECTS AS PERSPECTIVE PRODUCERS OF RENEWABLE ORGANICS
Shukhrat R. Madyarov 423

УЛУЧШЕНИЕ ПИЩЕВОЙ ЦЕННОСТИ И УСВОЯЕМОСТИ ПИТАТЕЛЬНЫХ КОМПОНЕНТОВ ХЛОПКОВЫХ СЕМЯН И ШЕЛКОВИЧНЫХ КОКОНОВ
Мадьяров Ш.Р., Исламова Ш.К., Умаров Ш.Р. 424

IMPROVEMENT OF FOOD VALUE AND ASSIMILABILITY OF NUTRITIOUS COMPONENTS OF COTTON SEEDS AND SILKWORM COCOONS
Madyarov Sh. R., Islamova Sh.K., Umarov Sh.R. 425

ПОЛУЧЕНИЕ И СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НОВОГО ЛИПИД-ТРАНСПОРТИРУЮЩЕГО БЕЛКА ИЗ УКРОПА *ANETHUM GRAVEOLENS*
Мельникова Д.Н., Финкина Е.И., Баландин С.В., Овчинникова Т.В. 426

PURIFICATION AND STRUCTURE-FUNCTION CHARACTERIZATION OF A NOVEL LIPID TRANSFER PROTEIN FROM THE DILL *ANETHUM GRAVEOLENS*
Melnikova D.N., Finkina E.I., Balandin S.V., Ovchinnikova T.V. 427

STUDY OF SOME PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO HULLESS BARLEY LINES UNDER PEG TREATMENT
Soghra Asgari Avini, Raheem Haddad, Hamidreza Nik-kha 427

EFFECT OF THE PEG TREATMENTS ON SOME PHYSIOLOGICAL CHARACTERS IN TWO BARLEY (*HORDEUM VULGAR* L.) INBRED LINES
Masume Ghadami, Raheem Haddad, Abbas Sotudenia 428

STUDY THE EFFECT OF THE PEG (6000) PRETREATMENT ON PHYSIOLOGICAL CHARACTERIZATION OF TWO ADVANCED LINES OF *DURUM WHEAT* UNDER DROUGHT STRESS
Raheem Haddad, Zahra Karimlou, Abdolali Gaffari, Abbas Sotoodehnia 428

МОДЕЛЬ АПОПТОЗА У РАСТЕНИЙ
Павловская Н.Е., Гаврилова А.Ю. 429

BIOTECHNOLOGICAL PROCESSING OF PRODUCTION WASTES BUCKWHEATS AND PROCESSING OF SUGAR BEET THE ENTERPRISES FOR RECEPTION OF USEFUL PRODUCTS
Parahin N.V., Pavlovskay N.E., Gorkova I.V., Gagarina I.N., Piskureva V.A. 430

IMPROVEMENT STRATEGIES FOR DRY TOLERANCE BY ANTIOXIDANT ENZYME ANALYZING ON TRITICALE
Raheem Haddad, Elham Salmani 430

РИЗОБАКТЕРИИ И АРБУСКУЛЯРНЫЕ МИКОРИЗНЫЕ ГРИБЫ ДЛЯ СТИМУЛЯЦИИ РОСТА И РАЗВИТИЯ ТРИТИКАЛЕ
Соловьева Е.А., Алещенкова З.М. 431

RHIZOBACTERIA AND ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI TO PROMOTE GROWTH AND DEVELOPMENT OF TRITICALE CULTIVARS
Solovyeva E.A., Aleschenkova Z.M.. 431

НЕКОТОРЫЕ ПРИЕМЫ БИОТЕХНОЛОГИИ ПРИ ПОВЫШЕНИИ ПЛОДОРОДИЯ МЕРЗЛОТНЫХ ПОЧВ ЯКУТИИ
Степанов А.И., Прибылых Е.И. 432

INVESTIGATING THE DIFFERENT DISINFECTION METHOD FOR SEED, ZYGOTIC EMBRYO AND MEGAGAMETOPHYTE TISSUE
Raheem Haddad, Mitra taghipoor, Maryam Ghannadnia 433

ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ К ФУЗАРИОЗУ DH ЛИНИЙ ПШЕНИЦЫ
Турашева С.К., Buerstmayr H.. 433

EVALUATION OF RESISTANCE TO FUSARIUM HEAD BLIGHT OF WHEAT DH LINES
Turasheva S.K., Buerstmayr H.. 434

ПРИМЕНЕНИЕ БИОПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ШТАММОВ АССОЦИАТИВНЫХ РИЗОБАКТЕРИЙ ПРИ ВОЗДЕЛЫВАНИИ ЛЮЦЕРНЫ В УСЛОВИЯХ ЦЕНТРАЛЬНОЙ ЯКУТИИ
Яковлева М.Т., с.н.с., к. с-х. н. 435

ВЫЯВЛЕНИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ БЕЛКОВЫХ МАРКЕРОВ С ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫМИ ПРИЗНАКАМИ ХЛОПЧАТНИКА
Юнусханов Ш., Абдуразакова З.Л.. 435

REVEALING OF INTERRELATION OF PROTEIN MARKERS WITH AGRICULTURAL VALUABLE TRAITS OF COTTON
Yunuskhanov Sh., Abdurazakova Z.L.. 436

ВЛИЯНИЕ ОГРАНИЧЕННОГО РЕЖИМА ПОЛИВА И ПРЕДПОСЕВНОЙ ЗАКАЛКИ СЕМЯН НА НЕКОТОРЫЕ ХОЗЯЙСТВЕННО-ЦЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ХЛОПЧАТНИКА
Юнусханов Ш., Кайнаров П.. 437

INFLUENCE OF LIMITED IRRIGATION REGIME AND PRESOWING HARDENING OF THE SEEDS FOR SEVERAL ECONOMICAL VALUABLE TRAITS OF COTTON PLANT
Yunuskhanov Sh., Kaynarov P. 437

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ СЕЛЕКЦИОННОЙ ЦЕННОСТИ ИСХОДНОГО МАТЕРИАЛА САХАРНОЙ СВЁКЛЫ (*BETA VULGARIS* L.)
Жужжалова Т.П., Федулова Т.П., Черкасова Н.Н., Васильченко Е.Н., Федорин Д.Н., Хуссейн А.С., Богачева Н.Н., Налбандян А.А. 438

MOLECULAR AND GENETIC CRITERIA OF BREEDING VALUE OF SUGAR BEET (*BETA VULGARIS* L.) STARTING MATERIAL
Zhuzhzhalova T.P., Fedulova T.P., Cherkasova N.N., Vasilchenko E.N., Fedorin D.N., Hussein A.S., Bogachova N.N., Nalbandyan A.A.. 438

ЗАСЕДАНИЕ В РАМКАХ СЕКЦИИ «БИОТЕХНОЛОГИЯ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ»

SESSION IN THE FRAME OF THE SECTION “BIOTECHNOLOGY IN ANIMAL BREEDING”

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ХЛОРЕЛЛЫ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ
Богданов Н.И. 440

BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS OF USE *CHLORELLA* IN ANIMAL HUSBANDRY
Bogdanov N.I.. 440

ГЕНОМИКА В РЕШЕНИИ ПРОБЛЕМ ЖИВОТНОВОДСТВА
Глазко В.И.. 441

GENOMICS IN RESOLVING OF PROBLEMS OF ANIMAL BREEDING
Glazko V.I. 442

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВИТРИФИКАЦИИ ПРИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ ЭМБРИОНОВ КОРОВ-ДОНОРОВ
Горбунов Ю.А.. 442

КЛЕТОЧНЫЕ И ГЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ В ИНТЕНСИФИКАЦИИ ЖИВОТНОВОДСТВА
Косовский Г.Ю. 443

CELL AND GENETIC TECHNOLOGIES IN THE INTENSIFICATION OF LIVESTOCK PRODUCTION
Kosovsky G.Yu. 444

МЕТОД УВЕЛИЧЕНИЯ СРОКА ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СРЕДЫ SOF С ЦЕЛЬЮ УПРОЩЕНИЯ И СТАНДАРТИЗАЦИИ ЭТАПА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА *IN VITRO*
Маленко Г.П., Корниенко Е.В. 445

A METHOD TO INCREASE SOF MEDIUM'S PERIOD OF USE FOR SIMPLIFICATION AND STANDARDIZATION OF BOVINE EMBRYO CULTIVATION STAGE *IN VITRO*
G.P. Malenko, E.V. Kornienko 446

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ТЕХНОЛОГИИ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПРОТИВОХЛАМИДИОЗНОЙ ВАКЦИНЫ
Нигьматуллина Д.И. 446

IMPROVEMENT OF PRODUCTION TECHNOLOGY ANTICHLAMYDIOSIS VACCINE
Nigmatullina D.I. 447

НОВЫЕ ОРИГИНАЛЬНЫЕ ПОДХОДЫ, МЕТОДЫ И ПРИБОРЫ ДЛЯ ЭФФЕКТИВНОЙ МИКРОХИРУРГИЧЕСКОЙ РЕКОНСТРУКЦИИ ПРЕДИМПЛАНТАЦИОННЫХ ЭМБРИОНОВ ЖИВОТНЫХ. ДОСТИЖЕНИЯ И ПРОБЛЕМЫ
Никитин В.А., Фесенко Е.Е. 448

NEW ORIGINAL APPROACHES, METHODS AND INSTRUMENTATION FOR EFFECTIVE MICROSURGICAL RECONSTRUCTION OF PREIMPLANTATION EMBRYOS OF ANIMALSACHIEVEMENTS AND CHALLENGES
Nikitin V.A., Fesenko E.E. 449

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОГЕСТЕРОНА МЕТОДОМ ЛАТЕРАЛЬНОГО ПРОТОЧНОГО ИММУНОАНАЛИЗА С ЦЕЛЬЮ РАННЕГО ДИАГНОСТИРОВАНИЯ СТЕЛЬНОСТИ КОРОВ
Сафронова В.А., Самсонова Ж.В., Осипов А.П., Егоров А.М. 449

DETERMINATION OF PROGESTERONE BY THE LATERAL FLOW IMMUNOASSAY FOR EARLY PREGNANCY DIAGNOSIS OF COWS
Safronova V.A., Samsonova J.V., Osipov A.P., Egorov A.M. 450

ПОСТЕРЫ
POSTERS

МОДЕЛИРОВАНИЕ ДЕЙСТВИЯ РЕГУЛЯТОРА РОСТА РАСТЕНИЙ – МЕЛАФЕНА, НА ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ
Алексеева О.М., Кременцова А.В., Ерохин В.Н., Семенов В.А. 451

THE EXPERIMETAL MODELL OF PLANT GROWTH REGULATOR – MELAFEN, ACTION TO THE LABORATORY ANIMALS.
Alekseeva O.M., Krementsova A.V., Erokhin V.N., Semenov V.A. 451

МНОЖЕСТВЕННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ САЙТЫ ИНТЕГРАЦИИ ГЕЛИТРОНА В ГЕНОМАХ ДОМАШНЕЙ ЛОШАДИ И КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
Астафьева Е.Е., Глазко В.И. 452

MULTIPLE POTENTIAL SITES OF HELITRON INTEGRATION IN CATTLE AND HORSE GENOMES
Astafeva E.E., Glazko V.I. 452

ИНБРИДИНГ И ПОЛИМОРФИЗМ «АНОНИМНЫХ» ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ДНК В ПОПУЛЯЦИЯХ ОВЦЕБЫКОВ СЕВЕРА РОССИИ
Бардуков Н.В., Глазко В.И. 453

INBREEDING AND POLYMORPHISM OF «ANONYMOUS» DNA FRAGMENTS IN MUSK OXEN POPULATIONS OF NORTH RUSSIA
Bardukov N.V., Glazko V.I.. 454

ISSR-PCR И IRAP-PCR ПОЛИЛОКУСНЫЕ МАРКЕРЫ В ПОИСКАХ «ГЕНОФОНДНОГО СТАНДАРТА» ПОРОД ЛОШАДЕЙ
Эркенов Т.А., Глазко В.И. 454

ISSR-PCR AND IRAP-PCR POLYLOCI MARKERS IN SEARCHING OF "GENE POOL STANDARD" OF BREED HORSES
Erkenov T.A., Glazko V.I. 455

КОРРЕКЦИЯ ГОМЕОСТАТИЧЕСКИХ СИСТЕМ ОРГАНИЗМА НА ФОНЕ СОЧЕТАННОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ СУПЕРЭКОТОКСИКАНТОВ
Идиятов И.И., Иванов А.А., Папуниди К.Х. 455

THE CORRECTION OF HOMEOSTATIC SYSTEMS OF AN ORGANISM AGAINST THE BACKGROUND OF COMBINED INFLUENCE OF SUPERECOTOXICANTS
Idiyatov I.I., Ivanov A.A., Papunidi K.Kh. 456

ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОСНОВ СРЕД С ПРОДОЛЖИТЕЛЬНЫМ СРОКОМ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА *IN VITRO*
Маленко Г.П., Корниенко Е.В., Коробкова М.Ю.. 457

PREPARATION OF CULTURE MEDIA BASES WITH PROLONGED PERIOD OF USE FOR *IN VITRO* PRODUCTION OF BOVINE EMBRYOS
G.P. Malenko, M.Yu. Korobkova, E.V. Kornienko 457

ПОЛИМОРФИЗМ ИНВЕРТИРОВАННЫХ ПОВТОРОВ МИКРОСАТЕЛЛИТОВ И ЕГО ВОЗМОЖНЫЕ ИСТОЧНИКИ НА ПРИМЕРЕ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ
Феофилов А.В. 458

POLYMORPHISM OF MICROSATELLITE INVERTED REPEATS AND ITS POSSIBLE SOURCES ON EXAMPLE OF AGRICULTURE ANIMALS
Pheophilov A.V. 459

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БАКУЛОВИРУСНОЙ СИСТЕМЫ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ ПРИ РАЗРАБОТКЕ ВАКЦИН ПРОТИВ ВИРУСНЫХ БОЛЕЗНЕЙ СВИНЕЙ
Раев С.А., Алексеев К.П., Шемельков Е.В., Забережный А.Д., Алипер Т.И., Мусиенко М.И., Орлянкин Б.Г., Верховский О.А. 459

USE OF BACULOVIRUS EXPRESSION SYSTEM FOR DEVELOPING VACCINES AGAINST VIRUS DISEASES OF SWINE
Raev S.A., Aliper T.I., Alekseev K.P., Zaberezhny A.D., Schemelkov E.V., MusienkoM.I., Orlyankin B.G., Verkhovski O.A. 460

ИНДУКЦИЯ СПЕРМАТОГОНИЕВЫХ КЛЕТОК ХРЯКА К ДИФФЕРЕНЦИРОВКЕ *IN VITRO*
Савченкова И.П., Васильева С.А. 461

INDUCTION OF BOAR SPERMATOGONIAL CELLS TO DIFFERENTIATION *IN VITRO*
Savchenkova I.P., Vasilyeva S.A. 461

ПЦР ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ПРОВИРУСНОЙ ДНК ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
Косовский Г.Ю., Сотникова Е.А. 462

PCR TEST SYSTEM FOR BLV PROVIRUS DETECTION.
Kosovsky G.Yu, Sotnikova E.A. 463

ПУБЛИКАЦИЯ
PUBLICATIONS

КОМПЛЕКС ПРЕПАРАТОВ БАВ ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОГО ОБЕСПЕЧЕНИЯ АПК И ПЕРСПЕКТИВЫ ЕГО РАЗВИТИЯ В УСЛОВИЯХ ВСТУПЛЕНИЯ РОССИИ В ВТО
Аликин Ю.С., Алексеева М.В., Баженов М.А., Лебедев Л.Р., Клименко В.П., Подгорный В.Ф., Телегина Ю.В. 463

COMPLEX OF BAS PREPARATIONS FOR VETERINARY SUPPORT AND ITS DEVELOPMENT PROSPECTS OF AGRIBUSINESS INDUSTRY UNDER ACCESSION TO THE WTO
Yu.S. Alikin, M.V. Alexeeva, M.A. Bazhenov, L.R. Lebedev, V.P. Klimenko, V.F. Podgorny, Yu.V. Telegina. 465

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ БИОНАНОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ОБЕСПЕЧЕНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ ПРОДУКТОВ И ЛЕЧЕНИЯ ЖИВОТНЫХ
Уша Б.В., Концевова А.А., Светличкин В.В. 465

PROSPECTS OF APPLICATION OF BIONANOTECHNOLOGY FOR SAFETY OF PRODUCTS AND TREATMENT OF ANIMALS
Usha B.V., Svetlitchkin V.V., Kontsevova A.A. 466

ПРИМЕНЕНИЕ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХМУЛЬТИПОТЕНТНЫХСТРОМАЛЬНЫХ КЛЕТОК В ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЕ
Уша Б.В., Луцай В.И., Вишневский А.А. 467

APPLICATION OF MESENCHYMALMULTIPOTENTNYSTROMALNY CAGES IN VETERINARY MEDICINE
Lutsay V.I. 467

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ СОХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО БИОРАЗНООБРАЗИЯ ЖИВОТНОГО МИРА
Багиров В.А., Кленовицкий П.М. 468

BIOTECHNOLOGICAL METHODS FOR CONSERVATION OF WILDLIFE GENETIC BIODIVERSITY.
Bagirov, VA, Klenovitsky PM 469

ГЕНОДИАГНОСТИКА ВИРУСА ЛЕЙКОЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА*
Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А., Виноградова И.В., Эрнст Л.К. 469

GENE DIAGNOSTICS OF LEUKEMIA BOVINE VIRUS *
E.A. Gladyr, N.A. Zinovieva, I.V. Vinogradova, L.K. Ernst 470

ПОЛУЧЕНИЕ КЛОНИРОВАННЫХ ЭМБРИОНОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ
Сингина Г.Н., Лопухов А.В. 471

PRODUCTION OF CLONED EMBRYOS OF FARM ANIMALS
G.N. Singina, A.V. Lopukhov 471

РЕТРОВИРУСНЫЕ ВЕКТОРЫ – ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ПУТЬ ПЕРЕНОСА РЕКОМБИНАНТНОЙ ДНК В ЭМБРИОНАЛЬНЫЕ ЛИНИИ КУР С ЦЕЛЬЮ СОЗДАНИЯ ТРАНСГЕННЫХ КУР
Волкова Н.А.,Фомин И.К., Зиновьева Н.А. 472

THE USE OF RETROVIRAL VECTORS IS THE PROMISING WAY OF GENE TRANSFER IN EMBRYOS OF CHICKEN FOR THE GENERATION OF TRANSGENIC BIRDS
Volkova N.A., Fomin I.K., Zinovieva N.A. 473

КРУГЛЫЙ СТОЛ «ЛЕСНАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ: ОТ ИССЛЕДОВАНИЙ К ИННОВАЦИЯМ»

SEMINAR "FOREST BIOTECHNOLOGY: FROM THE RESEARCH TO THE INNOVATIONS"

УСТНЫЕ ДОКЛАДЫ
ORAL REPORTS

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДОВ БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЫРАЩИВАНИЯ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА С ЗАКРЫТОЙ КОРНЕВОЙ СИСТЕМОЙ В ЛЕСНЫХ СЕЛЕКЦИОННО-СЕМЕНОВОДЧЕСКИХ ЦЕНТРАХ
Бурцев Д.С. 474

PERSPECTIVES OF USING BIOTECHNOLOGY METHODS TO IMPROVE THE EFFICIENCY PLANTING STOCK WITH PROTECTED ROOT SYSTEM IN FOREST BREEDING AND SEED CENTERS
Burtsev D.S. 474

БИОТЕХНОЛОГИИ ДЛЯ РАЗВИТИЯ СОВРЕМЕННОЙ ПРЕПАРАТИВНОЙ БАЗЫ ЗАЩИТЫ ЛЕСА
Гниненко Ю.И., Сергеева Ю.А. 475

BIOTECHNOLOGIES TO DEVELOP UPDATED PREPARATION BASED FOREST PROTECTION
Gninenko Yu.I., Sergeeva Yu.A. 475

ИЗУЧЕНИЕ ПРОЦЕССОВ ЛИГНИФИКАЦИИ ОСИНЫ МЕТОДАМИ ГЕННОЙ ИНЖЕНЕРИИ
Ковалицкая Ю.А., Шестибратов К.А. 476

THE STUDY OF LIGNIFICATION PROCESSES BY GENE ENGINEERING
Kovalitskaya Yu.A, Shestibratov K.A. 477

ГЕНОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ПРОБЛЕМ ЛЕСНОГО ХОЗЯЙСТВА
Крутовский К.В. 477

GENOME STUDIES IN FORESTRY
KrutovskyK.V. 478

УСКОРЕНИЕ РОСТА ДРЕВЕСНЫХ ЛЕСНЫХ ПОРОД С ПОМОЩЬЮ РЕКОМБИНАНТНОГО ГЕНА ГЛУТАМИН СИНТЕТАЗЫ
Лебедев В.Г., Салмова М.А., Розова Х.А., Шестибратов К.А. 479

ENHANCING GROWTH OF FOREST TREES USING RECOMBINANT GLUTAMINE SYNTHETASE GENE
Lebedev V.G., Salmova M.A., Rosova C.A., Schestibratov K.A. 479

БИОТЕХНОЛОГИИ В ЛЕСНОМ СЕКТОРЕ РОССИИ
Лукина Н.В., Чуйко В.А., Шестибратов К.А., Цикавый А.Д. 480

BIOTECHNOLOGY IN THE RUSSIAN FOREST-BASED SECTOR
Natalia V. Lukina, Vladimir A. Chuyko, Konstantin A. Shestibratov, Alexander D. Tsikavy 481

ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ЛЕСНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Мариев А.Н. 481

СПОСОБ ДЛИТЕЛЬНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *IN VITRO* КОЛЛЕКЦИИ БЫСТРОРАСТУЩИХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЙ СОХРАНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ И ХОЗЯЙСТВЕННОЙ ЦЕННОСТИ ИСХОДНЫХ ГЕНОТИПОВ
Машкина О.С., Табацкая Т.М., Зеленина Е.А. 482

METHOD OF LONG-TERM CULTIVATION OF *IN VITRO* COLLECTION OF FAST-GROWING TREES, SAFEGUARDING THE GENETIC AND ECONOMIC VALUE OF INITIAL GENOTYPES
Mashkina O.S., Tabatskaya T.M., Zelenina E.A. 483

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ ЛЕСНОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ В БЕЛАРУСИ
Падутов В.Е. 483

MAIN TRENDS OF FOREST BIOTECHNOLOGY IN BELARUS
Padutov V.E. 484

СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К МОЛЕКУЛЯРНОМУ МАРКИРОВАНИЮ ЛЕСНЫХ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ
Политов Д.В. 484

MODERN APPROACHES TO MOLECULAR MARKER APPLICATION IN FOREST TREES
Politov D.V. 485

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В ИННОВАЦИОННОЙ МОДЕЛИ РАЗВИТИЯ ЛЕСНОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИИ
Раздайводин А.Н., Калнин В.В., Чубугина И.В., Ромашкин Д.Ю., Радин А.И., Крутовский К.В. 486

PROSPECTS OF USING GENETIC METHODS IN AN INNOVATIVE MODEL OF RUSSIAN FORESTRY DEVELOPMENT
RazdaivodinA.N., KalninV.V., ChubuginaI.V., Romashkin D. Yu., Radin A.I., Krutovsky K.V. . .486

МЕТОДЫ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГЕНЕТИКИ В ЛЕСНОМ ХОЗЯЙСТВЕ: ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ
Шишкина О.К , Завистяева М.А. 487

METHODS OF MOLECULAR GENETICS IN FORESTRY: RESULTS AND PROSPECTS
O.K. Shishkina, M.A. Zavistyaeva 488

ПРИМЕНЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ И СОМАТИЧСКОГО ЭМБРИОГЕНЕЗА ХВОЙНЫХ В ПЛАНТАЦИОННОМ ЛЕСОВЫРАЩИВАНИИ
Третьякова И.Н.. 488

THE APPLICATION OF BIOTECHNOLOGY OF THE OBTAINING CONIFER CELL LINES AND SOMATIC EMBRYOGENESIS FOR ESTABLISHING FOREST PLANTATION
Tretiakova I.N. 489

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДОВ БИОТЕХНОЛОГИЙ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ПОСАДОЧНОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ СОЗДАНИЯ ЛЕСОСЫРЬЕВЫХ ПЛАНТАЦИЙ
Жигунов А.В., Шестбратов А.К., Шабунин Д.А., Лебедев В.Г., Бутенко О.Ю., Григорьев А.А. 490

USING BIOTECHNOLOGY TO PRODUCE PLANTING MATERIAL FOR TIMBER PLANTATIONS
Zhigunov A.V., Shestibratov A.K., Shabunin D.A., Lebedev V.G., Butenko O.Yu., Grigoryev A.A. 490

ПУБЛИКАЦИИ
PUBLICATIONS

ВЛИЯНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ АДВЕНТИВНЫХ ПОЧЕК ЕЛИ ЕВРОПЕЙСКОЙ
Черных Е.Н., Шургин А.И.. 491

THE INFLUENCE OF THE MINERAL COMPOSITION OF THE CULTURE MEDIUM ON THE FORMATION OF ADVENTITIOUS BUDS *PICEA ABIES*
Chernikh E.N., Shurgin A.I. 492

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ НА ОСНОВЕ БАКТЕРИЙ Р. *BACILLUS* ДЛЯ ЗАЩИТЫ ЛЕСНЫХ КУЛЬТУР ОТ БОЛЕЗНЕЙ
Молчан О.В., Носонова Т.Л., Евсегнеева Н.В., Коломиец Э.И. 492

BIOLOGICAL PREPARATIONS BASED ON BACTERIA OF GENUS BACILLUS TO CONTROL DISEASES OF FOREST CULTURES
Molchan O.V., Nosonova, T.L., Evsegneeva N.V., Kolomiets E.I.. 493

ДЛЯ ЗАМЕТОК
FOR NOTES

ДЛЯ ЗАМЕТОК
FOR NOTES